

**DIE ISOTOPENFRAKTIONIERUNG DES SAUERSTOFFS
BEI PHOTOSYNTHESE UND RESPIRATION DER
MARINEN KIESELALGE THALASSIOSIRA ROTULA
(MEUNIER)**

von

Helmut Zielke
—

Bochum 1979
—

**DIE ISOTOPENFRAKTIONIERUNG DES SAUERSTOFFS
BEI PHOTOSYNTHESE UND RESPIRATION DER
MARINEN KIESELALGE THALASSIOSIRA ROTULA
(MEUNIER)**

Von der Abteilung für Biologie
der Ruhr-Universität Bochum
zur Erlangung des akademischen Grades
eines Doktors der Naturwissenschaften
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Diplom-Biologe Helmut Zielke

aus Halver

Referent: Professor Dr. A. Trebst

Korreferent: Professor Dr. A. Redhardt

Ausw. Gutachter: Professor Dr. K. Wagener (KFA Jülich)

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Juni 1979

DIE ISOTOPTREAKTIONEN DES KALIIUMS
BEI PHOTOSYNTHE UND STIMULIERTER
MÄNNER KISSELE THALASSIOGALACTON
(MELNERT)

Die Isotopreaktionen des Kaliums
bei der Photosynthese und
bei der stimulierten
Kaliumaufnahme von
Thalassiothrix weissii

Abhandlung aus dem
Institut für Botanik
der Universität Hamburg



Die Isotopreaktionen des Kaliums
bei der Photosynthese und
bei der stimulierten
Kaliumaufnahme von
Thalassiothrix weissii

1911, 1912

Die ... und ...
...

...

Für Anna-Maria

...

A b s t r a c t

ZIELKE, HELMUT

DIE ISOTOPENFRAKTIONIERUNG DES SAUERSTOFFS BEI PHOTOSYNTHESE UND RESPIRATION DER MARINEN KIESELALGE *THALASSIOSIRA ROTULA* (MEUNIER)

Durch Messung der Sauerstoff-Konzentration konnten die Netto-Photosyntheserate und die Dunkelatmungsrate in bakterienarmen Kulturen der marinen Kieselalge *Thalassiosira rotula* (MEUNIER) bei Temperaturen von 5, 10 und 15 °C und Beleuchtung mit 37 bis 320 $\mu\text{Einstein m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ in angereichertem natürlichem Seewasser bestimmt werden. Die maximalen mittleren Photosyntheseraten betragen 273 bis 558 $\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$. Die Mittelwerte der Dunkelatmungsraten reichen von 27 bis 50 $\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$ und machen im Mittel 11.5 % der Produktionsrate der vorhergehenden Lichtphase aus. Bei hohen Sauerstoff-Konzentrationen tritt bisweilen eine vermutlich durch Photorespiration bedingte Reduktion der Produktionsrate auf.

Durch Extraktion des Sauerstoffs in einer Vakuumapparatur konnte nach Umwandlung in Kohlendioxid das Isotopenverhältnis $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ massenspektrometrisch ermittelt und daraus die Fraktionierung bei der Respiration bzw. die Anreicherung gegenüber dem Kulturwasser im photosynthetisch freigesetzten Sauerstoff errechnet werden. Der Fraktionierungsfaktor bei der Respiration beläuft sich im Mittel auf 1.02557. Die Anreicherung während der Photosynthese beträgt im Mittel 7.6 ‰. Auch unter der Annahme, daß die Dunkelatmung bei Belichtung unverändert beibehalten wird, bleibt eine Überhöhung von durchschnittlich 5.8 ‰ übrig.

Mit den berechneten Fraktionierungsfaktoren für Photosynthese und Respiration im marinen Biozyklus wurde eine Überprüfung eines 2-Kompartimentmodells des globalen Sauerstoffzyklus durchgeführt. Dabei weisen die Werte für die Anreicherung von ^{18}O im gelösten Sauerstoff der oberen Meeresschicht die bisher beste Übereinstimmung mit den im Meer tatsächlich gefundenen Meßdaten auf.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	6
2.1	Biologischer Teil	6
2.1.1	Material	6
2.1.2	Kulturmedium	6
2.1.3	Stammhaltung	6
2.1.4	Anzucht	7
2.1.5	Zellzahl-Bestimmung	7
2.1.6	Chlorophyll-Bestimmung	7
2.2	Physikalischer Teil	8
2.2.1	Sauerstoffmessung	8
2.2.2	Lichtmessung	9
2.2.3	Bestimmung des Gesamt-Karbonat-Gehaltes im Seewasser	9
2.2.4	Bestimmung des $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ - Verhältnisses im Kulturmedium	10
2.2.5	Apparatur für Extraktion bei Normaldruck und Anzuchtanlage mit Gasphase	11
2.2.5.1	Aufbau	11
2.2.5.2	Vorbereitung	13
2.2.5.3	Probennahme	14
2.2.6	Vakuum-Extraktionsapparatur und Anzuchtanlage ohne Gasphase	15
2.2.6.1	Aufbau	15
2.2.6.2	Vorbereitung	15
2.2.6.3	Probennahme	17
2.2.6.4	Extraktion von Kohlendioxid zur Bestimmung des $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - Verhältnisses im Gesamt-Karbonat	21
2.2.6.5	Eichversuche	22
2.2.7	Massenspektrometrie	22
2.2.7.1	Prinzipieller Aufbau eines Massenspektrometers	22
2.2.7.2	Massenspektrometrische Messung und Auswertung	25
3.	Ergebnisse	32
3.1	Allgemeine biologische Befunde	32
3.1.1	Wachstum in Stammkulturen und Röhrenkulturen	32

3.1.2	Reproduzierbarkeit von Zellzählung und Chlorophyll-Bestimmung	33
3.1.3	Entwicklung des Chlorophyll-Gehaltes und morphologische Bewertung der Algen während der Versuche	37
3.2	Allgemeine physikalische Befunde	39
3.2.1	Drift und Temperatureffekt der Sauerstoff-Elektrode	39
3.2.2	Bestimmung der mittleren Beleuchtungsintensität	41
3.2.3	Konzentration an anorganischem Kohlenstoff und pH-Werte im Medium	49
3.3	Ergebnisse der massenspektrometrischen Messungen	51
3.3.1	Messung von Standard-Sauerstoff	51
3.3.2	Messung von extrahiertem Standard-Sauerstoff	51
3.3.3	Das $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - Verhältnis in der anorganischen Kohlenstoff-Fraktion	54
3.3.4	$\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ - Verhältnisse im Kulturmedium	55
3.4	Auswertungen	57
3.4.1	Auswertung der Versuche mit Gasphase	57
3.4.2	Auswertung der Versuche ohne Gasphase	65
3.4.2.1	Berechnung der Fraktionierungsfaktoren	65
3.4.2.2	Theoretische Abschätzung des Beitrags der Dunkelatmung zur Fraktionierung in der Lichtphase und Berechnung der spezifischen Gasumsatzraten	72
3.4.2.3	Einfluß von Beleuchtung, Temperatur und Sauerstoff-Konzentration auf die Verdopplungszeit	75
3.4.2.4	Einfluß von Temperatur, Sauerstoff-Konzentration und Lichtintensität auf die Dunkelatmungsrate	76
3.4.2.5	Einfluß von Temperatur und Sauerstoff-Konzentration auf die Fraktionierung in der Dunkelphase	83
3.4.2.6	Einfluß von Lichtintensität, Temperatur und Sauerstoff-Konzentration auf die Netto-Photosyntheserate	85
3.4.2.7	Einfluß von Lichtintensität und Temperatur auf die Fraktionierung bei der Photosynthese	92
3.4.2.8	Fraktionierung während der Photosynthese in Gegenwart von an ^{18}O angereichertem Kaliumkarbonat	99
3.4.2.9	Abschätzung der Reproduzierbarkeit	99

4.	Diskussion	103
5.	Zusammenfassung	119
6.	Literaturverzeichnis	121

Verzeichnis häufig verwendeter Abkürzungen

a	Abstand (Beleuchtungsmessung) [mm]
α	Fraktionierungsfaktor
α_{ps}	Fraktionierungsfaktor bei der Photosynthese
α_r	Fraktionierungsfaktor bei der Respiration
b	Regressionskoeffizient
c	Konzentration
cO_2	Sauerstoff-Konzentration [ml l ⁻¹]
cChl	Chlorophyll a -Konzentration [μ g l ⁻¹]
γ	¹⁸ O-Molenbruch (Modellrechnung)
d	Schichtdicke [cm]
δ	Isotopenverschiebung [‰]
E	Extinktion
E_λ	Extinktion bei der Wellenlänge λ
ϵ, ϵ^*	Extinktionskoeffizient
f	Umrechnungsfaktor
f_v	Verdünnungsfaktor
f_d	Driftkorrektur
$\bar{I}$	Mittlere Beleuchtungsintensität [μ Ein m ⁻² sec ⁻¹]
L	Einstrahlungssumme [μ Ein m ⁻² sec ⁻¹]
$\bar{L}$	Mittlere Lichtintensität [μ Ein m ⁻² sec ⁻¹]
M	Sauerstoff-Menge [μ Mol, Torr·l]
n	Anzahl der Meßpunkte
r	Korrelationskoeffizient
R	Isotopenverhältnis
R, R'	Globale Umsatzraten [t O ₂ a ⁻¹]
R_r	Spezifische Dunkelatmungsrate [μ Mol O ₂ h ⁻¹ mg Chl a ⁻¹]
R_{ps}	Spezifische Netto-Photosyntheserate [μ Mol O ₂ h ⁻¹ mg Chl a ⁻¹]
S	Schreiberanzeige
T	Temperatur [°C]
T	Transmission
v	Variationskoeffizient [%]
V	Volumen [l, ml]
x	¹⁸ O-Atom- bzw. Molenbruch
z	Verdoppelungszeit [h]
Z	Zellzahl [ml ⁻¹]

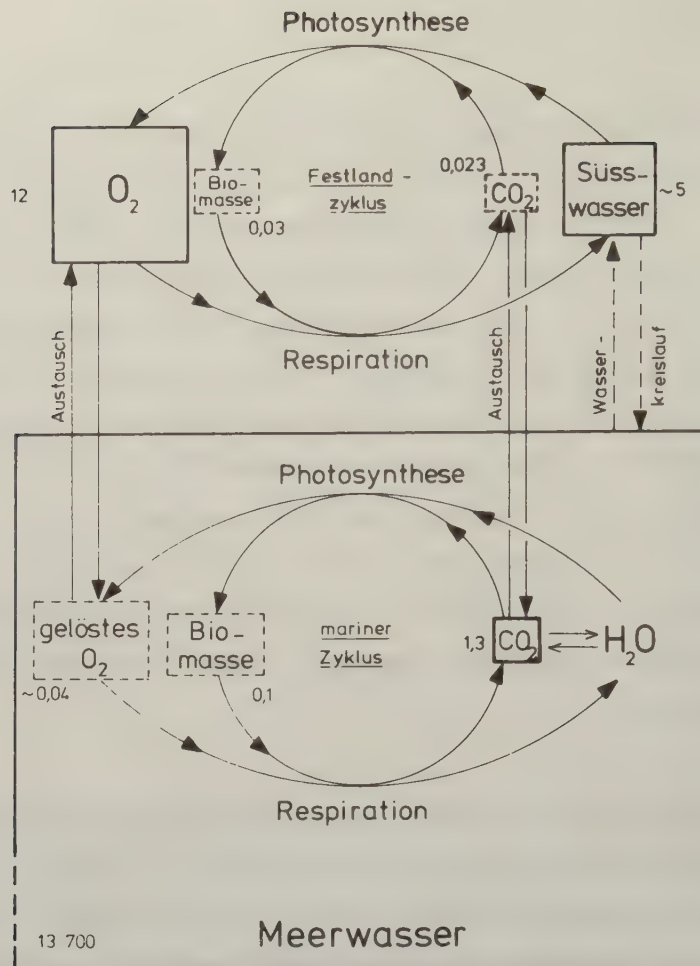


Abb. 1 Reservoirs und Reaktionswege des Sauerstoffs in den Biozyklen. Die Zahlen neben den Reservoirs sind Massenangaben in 10^{14} t. Der Sauerstoff des gelösten CO_2 unterliegt einem schnellen Isotopenaustausch mit dem Wasser. Die gestrichelt umrandeten Reservoirs sind maßstäblich zu groß gezeichnet (aus WAGENER, 1973).

$1.2 \cdot 10^{11}$ t O_2 a $^{-1}$ auf dem Land bzw. $0.6 \cdot 10^{11}$ t O_2 a $^{-1}$ im Meer. Die Entwicklung der Sauerstoffatmosphäre der Erde geschah in enger Wechselwirkung mit der Evolution der Biosphäre (WAGENER, 1973). Der Sauerstoffgehalt ist etwa seit der Kreidezeit stationär. Große Schwankungen sind seitdem offenbar nicht mehr möglich gewesen, wie sich aus geochemischen Stoffbilanzen erschließen läßt.

Da ausschließlich kurzlebige künstliche radioaktive Sauerstoff-Isotope existieren, sind für Untersuchungen von Reaktionen, an denen Sauerstoff beteiligt ist, nur die drei stabilen Isotope ^{16}O , ^{17}O und ^{18}O geeignet. Chemisch an sich gleichwertig unterscheiden sich diese Atome allein durch ihre Masse. Der relative Massenunterschied ist aber Ursache für erhebliche Isotopenverschiebungen. Diese Erscheinungen werden generell als Isotopieeffekte (KRUMBIEGEL, 1970) bezeichnet, wobei man kinetische und thermodynamische Effekte zu unterscheiden hat. Die ersteren entstehen bei allen Transportprozessen, die letzteren zeigen sich in der Isotopen-abhängigen Gleichgewichtslage chemischer Reaktionen. Das Ausmaß eines Isotopieeffektes wird vor allem durch die Massendifferenz der Isotopen Atome bestimmt. Da dieser Unterschied zwischen ^{16}O und ^{18}O doppelt so groß wie bei ^{16}O gegen ^{17}O ist und außerdem das ^{18}O -Isotop fast zehnmal häufiger als ^{17}O vorkommt, wird bei Untersuchungen von Sauerstoff das Verhältnis $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ als 'Tracer' benutzt.

Dieses Verhältnis ist in den großen Sauerstoff-Reservoirs nicht identisch. Die relativen prozentualen Anteile an ^{18}O (der ^{18}O -Molenbruch im Molekül) in den einzelnen Kompartimenten sind nachfolgend aufgeführt (berechnet nach KROOPNICK, 1971 und BAERTSCHI, 1976):

Luftsauerstoff		0.204780	(+ 23.65 ‰)
Meerwasser		0.200045	(0 ‰)
Süßwasser	bis zu	0.190040	(bis zu - 50 ‰)
atmosphärisches CO_2		0.208250	(+ 41 ‰)
Sauerstoff in Meerwasser gelöst	bis zu	0.207650	(bis zu + 38 ‰)

Zur Veranschaulichung sind auch die in der Isotopenchemie üblichen Angaben von An- oder Abreicherungen in ‰ - bezogen auf Seewasser als Skalennullpunkt - in Klammern hinzugefügt. Diese Überhöhungen im stationären Zustand werden durch Isotopieeffekte bei den Reaktionen zwischen den einzelnen Reservoirs verursacht.

Ein seit langem bekannter und sehr bemerkenswerter Sachverhalt ist die ungewöhnlich hohe Anreicherung von ^{18}O im freien Sauerstoff der Atmosphäre, ein Befund, der nach seinen Entdeckern (1935) DOLE-MORITA-Effekt genannt wird und nicht auf einem einfachen Isotopenaustauschgleichgewicht zwischen O_2 und H_2O beruhen kann. Diese Überhöhung an ^{18}O wird durch bevorzugte Aufnahme von ^{16}O bei der Respiration vor allem der Mikroorganismen und eine erhöhte ^{18}O -Abgabe bei der terrestrischen Photosynthese erklärt (SCHLESER, 1977). Nach KROOPNICK (1975) ist hingegen - ausgehend von einem Anteil des Ozeans von 60 % am gesamten globalen Gasumsatz - vor allem die marine Respiration dafür verantwortlich. Diese Anreicherung an ^{18}O des im Meerwasser gelösten Sauerstoffs (vgl. z.B. KROOPNICK, 1971) ist von der Tiefe abhängig. Sie ist in der Zone des geringsten Sauerstoff-Gehalts ('Sauerstoff-Minimum') maximal (+ 38 ‰) und liegt im Wasserkörper oberhalb dieser Zone zwischen dem Wert für Luft und diesem Maximalwert.

RUBEN et al. (1941) fanden unter Einsatz von ^{18}O haltigem Wasser, daß der bei der Photosynthese freigesetzte Sauerstoff aus dem Wasser stammt. Diese 'photolytische Wasserspaltung' ist allgemein akzeptiert, aber nicht unumstritten. In einer kritischen Übersicht untersucht METZNER (1975) alle vorliegenden Resultate. Nach METZNER (1978) besteht kein Zweifel daran, daß die Elektronen der photosynthetischen Elektronen-Transportkette letztlich aus dem Wasser stammen, allerdings ist damit noch nicht die Natur der unmittelbaren Vorstufe des O_2 -Moleküls bekannt.

Obwohl das Sauerstoffreservoir des Weltmeeres hinsichtlich seiner Konzentration und Isotopenzusammensetzung sehr stark ortsabhängig und somit eine ^{18}O -Bilanz für dieses Reservoir recht schwierig zu erstellen ist, analysiert WAGENER (1974, 1975) unter Berücksichtigung globaler Daten für die Umsatzraten und Fraktionierungsfaktoren der beiden Sauerstoffzyklen das Gesamtsystem in einem 2-Kompartimentmodell. Damit zeigt sich, daß sowohl bezüglich der Austauschrate von Sauerstoff zwischen Atmosphäre und Meer als auch vor allem für den ^{18}O -Gehalt im gelö-

sten Sauerstoff der oberen Meeresschicht (oberhalb des Sauerstoff-Minimums) die aus den verwendeten Ausgangsdaten errechneten Werte nicht zutreffend sind. Das deutet darauf hin, daß die Ausgangsdaten in sich nicht konsistent sind und einer Überprüfung bedürfen.

In diesem Zusammenhang stellt nun das marine Phytoplankton den allerwichtigsten Faktor dar. Die Sauerstoffisotopenfraktionierung bei der Photosynthese und Respiration des marinen Phytoplanktons ist daher zweifellos der Schlüssel zum Verständnis der ^{18}O -Fraktionierung im marinen Sauerstoffzyklus. Untersuchungen zur Fraktionierung bei der Photosynthese mariner Algen wurden bislang nur von VINOGRADOV et al. (1959) an Mischkulturen mariner Kieselalgen vorgenommen. Die Isotopenfraktionierung bei der marinen Respiration wurde vor allem aus der Zunahme an ^{18}O im gelösten Sauerstoff mit zunehmender Tiefe über eine RAYLEIGH-Fraktionierung indirekt erschlossen. In einer neueren Untersuchung ermittelte KROOPNICK (1975) den respiratorischen Fraktionierungsfaktor in abgeschlossenen Seewasserproben.

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, in einem wohldefinierten, möglichst naturgetreuen und daher auch nicht axenischen System die im Ozean zu erwartende Isotopenfraktionierung bei Photosynthese und Respiration eines typischen marinen Primärproduzenten unter Einbeziehung des Beitrags der unter natürlichen Bedingungen auch vorhandenen Bakterienflora zu ermitteln. Mit den so erhaltenen Fraktionierungsfaktoren erfolgt eine erneute Überprüfung des oben erwähnten 2-Kompartimentmodells. Zusätzlich werden die Fraktionierungsfaktoren in den Lichtphasen gesondert analysiert.

2. Material und Methoden

2.1 Biologischer Teil

2.1.1 Material

Für alle Versuche wurden Klone der marinen Kieselalge *Thalassiosira rotula* MEUNIER eingesetzt, die im Laufe der Stammhaltung aus Auxosporen des Stammes (BR 75) isoliert wurden, der mir freundlicherweise von Herrn Priv.-Doz. Dr. H.K. SCHÖNE zur Verfügung gestellt wurde. Die Zellen hatten während der Versuche einen Valvardurchmesser von $\sim 50 \mu\text{m}$. Die Kulturen waren nicht axenisch, konnten aber als 'bakterienarm' angesehen werden. Sie waren jedoch frei von Flagellaten oder anderen Algenspezies.

2.1.2 Kulturmedium

Zur Kultivation diente natürliches Nordseewasser. Es wurde durch $0.2 \mu\text{m}$ Membranfilter (Fa. SARTORIUS, Göttingen) filtriert und nach SCHÖNE (1972) pro Liter angereichert mit 21.25 mg NaNO_3 , 20.0 mg $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$, 10.75 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 3.72 mg Na_2EDTA , 1.78 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 0.278 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ und 1 μg Vitamin B_{12} . Die Salinität betrug 32.5 ‰. Das Metasilikat (Fa. RICHARDSON-MERREL, Groß-Gerau) sowie alle anderen verwendeten Reagenzien (Fa. MERCK, Darmstadt) waren von analytischer Reinheit. Um eine Kontamination mit Fremdalgen auszuschließen, wurde das angereicherte Medium auf 85°C erhitzt und zur besseren Haltbarkeit anschließend kühl und dunkel aufbewahrt.

2.1.3 Stammhaltung

Die Stammhaltung erfolgte in kleinen Plastik-Petrischalen mit 9 ml Medium. Diese Schalen wurden in regelmäßigen Intervallen mit einzelnen Ketten inokuliert und in einem beleuchteten Kühlschrank bei ca. $20 \text{ Microeinstein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ (im folgenden als $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ angegeben) und einem Licht-Dunkel-Wechsel (LDW) von 10:14 Stunden inkubiert. Der LDW bewirkte gleichzeitig auch

einen Temperaturtagesgang mit 10-11 °C in der Dunkelphase und 15-16 °C in der Lichtphase.

2.1.4 Anzucht

Die Anzucht der Algen erfolgte in einem Lichtthermostaten (Fa. KNIESE, Marburg). Die Kulturröhren wurden wie alle anderen Glasgeräte zur Algenkultivation sehr gründlich gereinigt und bis zur Verwendung oder für mindestens 14 Stunden bei 70 °C getrocknet. Die Röhren wurden mit ca. 370 ml Medium gefüllt und mit Algen aus den Stammkulturen bzw. aus einer gut aufgewachsenen Kulturröhre inokuliert. Die Begasung erfolgte von unten mit einer Begasungsrate von 2-12 ml min⁻¹ $\hat{=}$ 10-60 Blasen pro Minute. Der Gasstrom wurde in einer Waschflasche befeuchtet und durch Wattefilter geleitet. Die Algen wurden mit 165 μ Ein m⁻² sec⁻¹ (Summe aus der direkten Messung und der Reflexion auf der weißen Rückwand des Kulturbeckens) und einem LDW von 14:10 Stunden beleuchtet. Die Temperatur betrug 15 $\pm$ 1 °C.

2.1.5 Zellzahl-Bestimmung

Die Zellzählung erfolgte in Objektträgern mit Hohlschiff im Durchlicht-Mikroskop bei 126facher Vergrößerung. Je nach Zelldichte wurden jeweils 50 bzw. 10 μ l aus der zu untersuchenden Probe sechsmal ausgezählt und gemittelt.

2.1.6 Chlorophyll-Bestimmung

Die Bestimmung von Chlorophyll a und Chlorophyll c erfolgte in Anlehnung an die Standardmethoden (vgl. z.B. STRICKLAND & PARSONS, 1968). Eine ausreichende (siehe Kap. 3.1.2) Menge Algensuspension wurde mit 0.1 ml 2 %iger MgCO₃-Suspension versetzt und über Membranfilter (Zellulosenitrat, 25 mm ϕ , 1.2 μ m Porenweite, Fa. SARTORIUS, Göttingen) mit einer Wasserstrahlpumpe abfiltriert und 1 Minute trockengesaugt. Die Filter wurden in verschraubbaren Zentrifugengläsern bei -20 °C gelagert. Eine entsprechende Menge partikelfreies Meerwasser (filtriert durch

0.2 µm Filter) mit MgCO_3 -Zugabe wie oben wurde identisch behandelt und diente für einen Meßsatz von 10-20 Proben als Blindwert.

Zur weiteren Verarbeitung wurden die Filter mit ca. 7 ml 90 %igem Aceton versetzt, gut geschüttelt und im Dunkeln bei Zimmertemperatur ca. 24 Stunden stehengelassen. Anschließend wurden sie etwa 20 Minuten lang mit ca. 1200 g zentrifugiert. Der klare Überstand wurde in 10 ml Meßkolben überführt und aufgefüllt. Die Messung der Extinktion erfolgte in 4 cm Küvetten in einem BECKMANN DB-G Spektralphotometer bei 750 nm, 664 nm und 630 nm. Die Extinktion bei 750 nm wurde als Trübungsbeitrag von allen anderen Werten abgezogen. Die resultierende Extinktion des Blindwertes für 664 nm und 630 nm wurde ebenfalls von allen weiteren Proben subtrahiert. Die so erhaltenen Extinktionswerte wurden in die folgenden, aus JEFFREY & HUMPHREY (1975) übernommenen Gleichungen eingesetzt: (V = filtriertes Volumen in ml, 2.5 = Korrekturfaktor für 1 cm Küvette und 10 ml Lösung)

$$\mu\text{g Chlorophyll a ml}^{-1} = (11.47 E_{664} - 0.4 E_{630}) \frac{2.5}{V} \quad (1)$$

$$\mu\text{g Chlorophyll c ml}^{-1} = (24.36 E_{630} - 3.73 E_{664}) \frac{2.5}{V} \quad (1a)$$

Es wurde darauf geachtet, daß die korrigierte Extinktion für 664 nm kleiner als 0.2 war, um im linearen Extinktionsbereich (siehe Kap. 3.1.2) zu bleiben und eine vollständige Extraktion zu erreichen.

2.2 Physikalischer Teil

2.2.1 Sauerstoffmessung

Zur Aufzeichnung des Sauerstoffgehaltes diente eine polarographische Elektrode (EO 16; Meßgerät OXI 39; Fa. WTW, Weilheim) mit angeschlossenem Schreiber. Die Elektrode wurde in sauerstofffreiem Seewasser (Nullpunktseichung) und in luftgesättigtem Seewasser (Steilheitseinstellung) direkt in $\text{ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ ge-

leicht. Als Sollwert für luftgesättigtes Seewasser galt der für die vorliegende Temperatur, Salinität und Höhe über NN ermittelte Wert aus den Standardtabellen (RILEY & SKIRROW, 1975). Die Eichung für die Elektrode in der Gasphase für Versuche mit Gas- und Wasserphase ist in Kap. 2.2.5.2 angegeben.

2.2.2 Lichtmessung

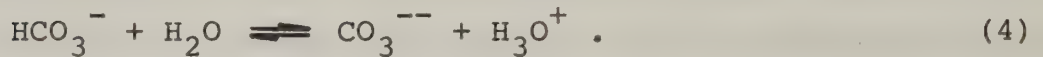
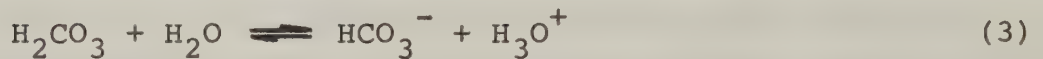
Die Lichtmessung erfolgte mit einem LI-190 S Quantum Sensor der Firma LAMBDA-Instruments Corporation, Lincoln, Nebraska, USA. Dieser Sensor mißt die photosynthetisch aktive Strahlung (photosynthetic active radiation, PAR) in etwa im Bereich von 400-700 nm. Die Intensität wird in $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ angegeben. Laut Firmenprospekt wurde der Sensor gegen NBS (National Bureau of Standards) Standard-Lampen kalibriert. Pro $1000 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ erzeugt der Sensor einen Strom von 6.94 Mikroampere bzw. an einem Widerstand von 604Ω eine Spannung von 4.19 mV, die direkt mit einem Millivolt-Schreiber aufgezeichnet wurde. Für Unterwassermessungen wurde der Sensor in Glasgefäßen eingebaut verwendet. Der Sensor ist bis zu einem Einfallwinkel von 82° cosinuskorrigiert und frei von Azimut-Fehlern. Der Fehler durch Alterung beträgt weniger als 2 % pro Jahr, und der relative Fehler ist kleiner als 5 %.

2.2.3 Bestimmung des Gesamt-Karbonat-Gehaltes im Seewasser

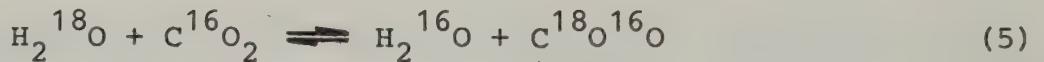
Die Bestimmung der anorganischen C-Komponenten im Seewasser (CO_2 , HCO_3^- , $\text{CO}_3^{--} = \Sigma\text{CO}_2$) erfolgte manometrisch. Ungefähr 10 ml Seewasser wurden mit 50 μl ca. 1 N NaOH versetzt ($\text{pH} > 10$) und bis zur Bestimmung bei $+4^\circ\text{C}$ aufbewahrt. 7 ml dieser Lösung wurden in Warburg-Gefäße von ca. 40 ml Gasvolumen mit 0.5 ml 1 %iger H_3PO_4 in der Seitenbirne einpipettiert und bei 20°C äquilibriert. Nach Einkippen der Säure wurde die entwickelte Gasmenge anhand des entstehenden Überdrucks bestimmt.

2.2.4 Bestimmung des $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ -Verhältnisses im Kultur- ----- medium

Die Bestimmung des $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ -Verhältnisses im Wasser erfolgte nach dem üblichen Verfahren durch Äquilibrierung mit Kohlendioxid an einer Apparatur nach FRESKO (1977). Bei dieser Methode wird 1 ml Probenwasser in einer Gaspipette in einer Trockeneis/Aceton-Mischung von -78°C eingefroren und der Gasraum nach Evakuierung mit einer definierten Menge Kohlendioxid beschickt. Das Kohlendioxid löst sich im Meerwasser und reagiert gemäß folgenden Gleichungen (METZNER, 1975):



Dabei tritt ein Austausch der Sauerstoffisotope ein, der gemäß der Gleichung



zu einer Anreicherung des schweren Isotops im Kohlendioxid führt. Der Trennfaktor α lautet:

$$\alpha = \frac{\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}}{2 \text{C}^{16}\text{O}_2} \bigg/ \frac{\text{H}_2^{18}\text{O}}{\text{H}_2^{16}\text{O}}$$

entsprechend der Definition von UREY (1947) und beträgt im vorliegenden Fall 1.04202 bei 22°C (HORIBE et al., 1973).

Nachdem sich über Nacht das Austauschgleichgewicht eingestellt hat, wird die Wassermenge erneut eingefroren, das Gas in eine Gaspipette einkondensiert und am Massenspektrometer gemessen. Die δ -Werte (siehe Kap. 2.2.8) des Kohlendioxids vor der Äquilibrierung δ_v und nachher δ_{eq} ergeben nach der Gleichung aus

SCHLESER (1977)

$$\delta_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{1}{\alpha} \delta_{\text{eq}} + \left(\frac{1}{\alpha} - 1\right) + \frac{1}{\rho} (\delta_{\text{eq}} - \delta_{\text{v}}) \quad (6)$$

den δ -Wert für das Wasser vor dem Austausch $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$. Der Wert ρ ist dabei definiert als:

$$\rho = \frac{\text{Anzahl der Mole H}_2\text{O}}{2 \cdot \text{Anzahl der Mole CO}_2} \quad .$$

Bei einigen Proben wurde das Meerwasser vor der Äquilibrierung mit ca. 5 μl 85 %iger H_3PO_4 versetzt, um den autochthonen Anteil an Karbonat und Bikarbonat zu reduzieren.

2.2.5 Apparatur für Extraktion bei Normaldruck und Anzuchtanlage mit Gasphase

2.2.5.1 Aufbau

Der Aufbau der Apparatur ist aus Abb. 2 ersichtlich. Das Kulturgefäß ist ein doppelwandiger Zylinder mit 150 mm Innendurchmesser und ca. 250 mm Höhe, auf den passend ein Schliffdeckel mit Schliffhülsen zur Montage der Zusatzarmaturen aufgesetzt wird. Alle Schliffverbindungen sind gefettet. Das zusammengebaute Gefäß hat ein Gesamtvolumen von etwa 5300 ml. Es wird von einem Lampenkranz von mindestens 2×8 Watt bis maximal 16×8 Watt beleuchtet (siehe Kap. 3.2.2) und ist mit elastischen gasdichten Federkörpern mit der übrigen Apparatur (s.u.) verbunden. Die Kühlung erfolgt durch den Kühlmantel mit einem Thermostaten der Fa. HAAKE.

2.2.5.2 Vorbereitung

Das Kulturgefäß wurde mit ca. 4.4 l Medium gefüllt. Danach erfolgte eine Spülung mit 1 % Kohlendioxid in Helium über die Hähne 1 und 2 durch die Stutzen für Gaseinlaß GE, Gasauslaß GA und über die Hähne 3, 4, 10 und 11 ins Freie, bis die Sauerstoff-Elektrode in der Gasphase einen konstanten Wert nahe Null anzeigte. Über Nacht wurde mit ca. 800 U/min gerührt. Eine zusätzliche Spülung der Wasserphase ist über Hahn 1 und den Stutzen für Wasserbegasung W möglich. Die Begasungsstutzen enthalten Wattestopfen, um einen Eintrag von Staub und Flugrost zu verhindern.

Nach der Äquilibrierung von Gasphase und Wasserphase wurde die geeichte Sauerstoff-Elektrode für die Wasserphase eingebaut. Anschließend wurde die Gasphase ohne Rührung mit Helium bis zur konstanten Anzeige gespült und auf Null eingestellt. Dann wurden 20 ml reiner Sauerstoff eingespritzt. Nach einer Stunde war die Gasphase komplett durchmischt, und der Sollwert der Sauerstoffkonzentration konnte als '% O₂' eingeeicht werden. Die Gasphase wurde erneut gespült und mit 50 - 100 ml Standard-Sauerstoff beschickt. Daraus wurde eine Eichprobe für die Umwandlung entnommen (s.u.) und anschließend erneut auf '0 % O₂' gespült.

Eine gutgewachsene Algenkultur aus einer KNIESE-Röhre wurde langsam mit maximal 22 Torr Unterdruck durch ein Planktonnetz (40 µm) filtriert. Die konzentrierten Algen wurden mit ca. 20 ml frischem Medium gewaschen und in ca. 30 ml frischem Medium aufgenommen. Anschließend erfolgte die Inoculation in das beleuchtete Kulturgefäß bei einer Rührung von 250 U/min. Dabei war der Druckausgleich über die Hähne 3, 4, 10 und 11 möglich. Die eingedrungene Menge Sauerstoff wird in der Auswertung berücksichtigt. Die Sauerstoff-Elektroden im Wasser O_{2,W} und in der Gasphase O_{2,G} zeigten die photosynthetische Freisetzung von Sauerstoff an. Die Entwicklung wurde auf Schreibern (Fa. LINSEIS für die Gasphase, Fa. W+W für die Wasserphase) aufgezeichnet.

Der übrige Teil der Apparatur diente zur Entnahme von Proben aus der Gasphase. Als vorbereitender Schritt wurde das ganze System mit Helium gespült, wobei die Rate mit einem Durchflußmesser kontrolliert wurde. Die Kühlfalle KF1 wurde mit Trockeneis/Aceton auf -78°C und die Kühlfalle KF 2 mit Isopentan/Flüssig-Stickstoff auf -140 bis -150°C gekühlt. Das U-Rohr NA wurde mit Natronasbest zur Kohlendioxid-Absorption beschickt. Das Adsorptionsgefäß AG wurde evakuiert und mit ausgeheiztem Molekularsieb $5 \text{ \AA}$ (Fa. MERCK) gefüllt.

2.2.5.3 Probennahme

Nach ca. 3 Stunden bzw. 20 l Helium wurde der Heliumstrom zur Spülung durch das Adsorptionsgefäß geleitet, auf $50 - 70 \text{ ml min}^{-1}$ eingestellt und über die Hähne 2 und 3 durch den Gasraum des Kulturgefäßes geleitet bis die Anzeige der Sauerstoff-Elektrode einen Austrag von ca. $1 - 2 \% \text{ O}_2$ (entsprechend einer Gasmenge von $6,8 - 13,5 \text{ Torr} \cdot \text{l}$ bei 752 Torr und einem Volumen der Gasphase von ca. 900 ml) anzeigte. Gleichzeitig wurde das Adsorptionsgefäß mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlt und die Spülung noch mindestens 3 bis 5 Stunden fortgesetzt. Dabei wird das Gasgemisch in der Falle KF 1 vom Wasserdampf und im Rohr NA bzw. in der Kühlfalle KF 2 vom Kohlendioxid befreit. Die übrigen Gase - Stickstoff, Argon und vor allem Sauerstoff - adsorbieren an dem gekühlten Molekularsieb, während das Helium entweicht. Um einen Einstrom an Außenluft zu unterbinden, wurde der Gasstrom durch eine Sperrflüssigkeit gelenkt.

Nach einem gesamten Spülgasvolumen von ca. 15 bis 20 l Helium wurden die Hähne 6 und 8 geschlossen und das Adsorptionsgefäß an eine Vakuumapparatur angeschlossen, wo der Sauerstoff zu Kohlendioxid umgewandelt und das Gefäß erneut evakuiert wurde (siehe Kap. 2.2.6.3). Zur Kontrolle der Algen sowie zur Chlorophyll-Bestimmung und zur Isotopenanalyse des Wassers wurde bei geschlossenem Hahn 3 über Hahn 2 ein leichter Überdruck an Helium auf das System gegeben, wodurch über den Probennahmestutzen eine kleine Menge Kulturflüssigkeit entnommen werden konnte.

2.2.6 Vakuum-Extraktionsapparatur und Anzuchtanlage ohne Gasphase

2.2.6.1 Aufbau

Diese Apparatur entspricht der in ZIELKE und FÖRSTEL (1978) beschriebenen Vorrichtung. Abbildung 3 zeigt den Aufbau der Kulturanlage. Das doppelwandige Kulturgefäß ist im Prinzip wie in Kapitel 2.2.5.1 aufgebaut, verfügt aber nur über ein Gesamtvolumen von 2630 ml. Zur Abdichtung wurde statt Schliff Fett eine plastische Dichtungsmasse verwendet bzw. die Normschliffe mit Teflonmanschetten versehen, die wie alle Verbindungsleitungen aus PVC-Schlauch oder Glas gefahrlos auf 70 °C erhitzt werden können. Alle Zuleitungen für Spülgas sind mit Wattefiltern versehen. Die endgültige Montage der Anlage erfolgte erst nach der Ausheizung. Die Hähne 1 bis 3 dienen zur Nachfüllung des Kulturgefäßes bzw. zur Spülung der Zuleitungen. Der Deckel ist durch eine Kette fest aufgepreßt, um ein Abspringen durch Überdruck zu verhindern. Die Beleuchtung erfolgt wie in Kapitel 2.2.5.1 durch einen Lampenkranz. Während der Dunkelphasen wird das Kulturgefäß zusätzlich verdunkelt.

2.2.6.2 Vorbereitung

Das zusammengebaute Kulturgefäß sowie das Reservoir wurden mit Medium gefüllt (ca. 5 l im Reservoir und ca. 2.5 l im Kulturgefäß) und bei starker Rührung über Nacht mit Helium gespült. Das Reservoir wurde während des ganzen Versuchs mit Helium oder 1 % Kohlendioxid in Helium mit geringer Rate gespült, um einen Einstrom von Luftsauerstoff zu unterbinden. Das Kulturgefäß wurde anschließend in einem Exsikkator 1 Stunde unter Rührung mit einer Wasserstrahlpumpe evakuiert. Nach Einbau der geeichten Sauerstoff-Elektrode wurde das Gefäß komplett luftblasenfrei mit Medium aus dem Reservoir über den Füllstutzen F aufgefüllt. Das Gefäß wurde gegebenenfalls von außen mit einem Spülmittel beschichtet, um ein Beschlagen zu unterbinden.

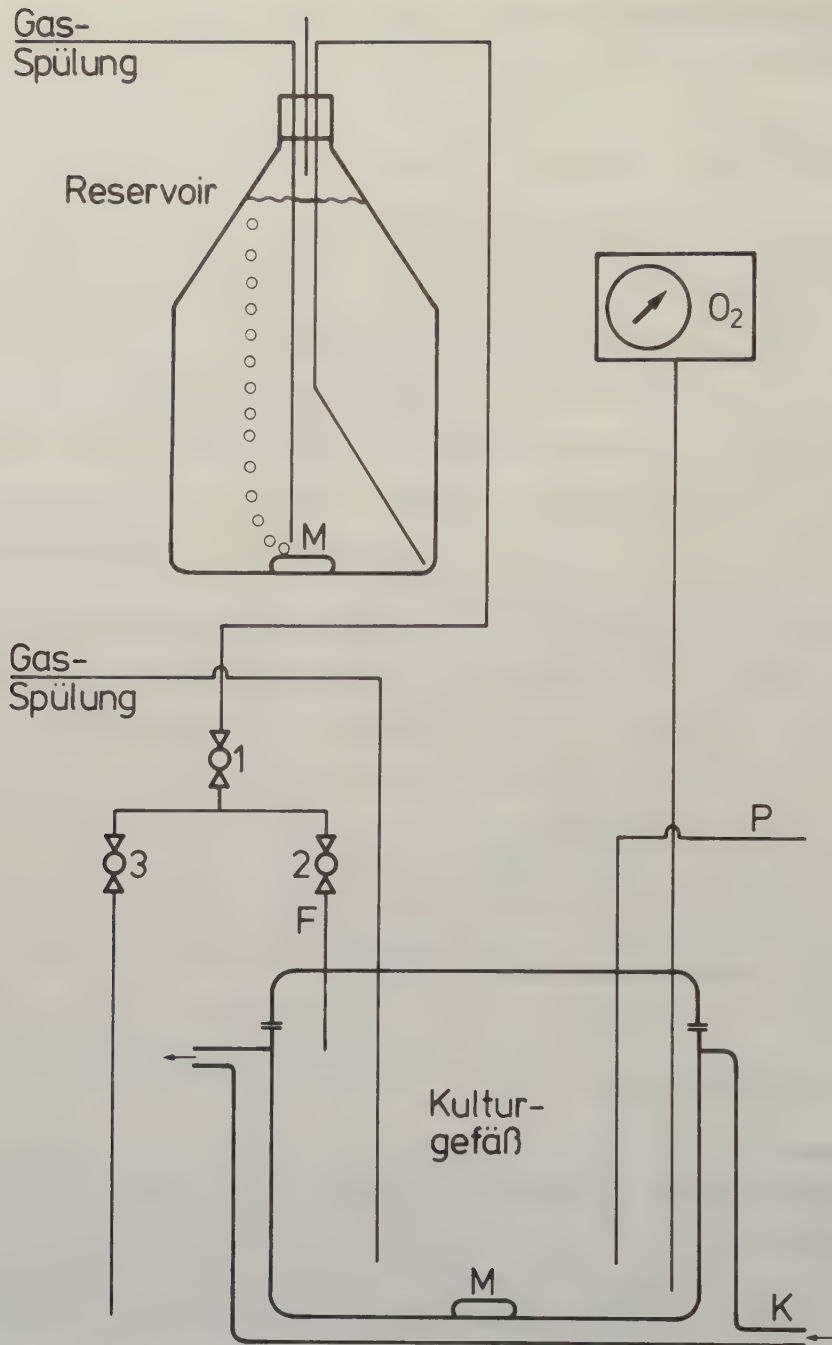


Abb. 3 Schematische Darstellung der Anzuchtanlage für Kulturen ohne Gasphase.

1 - 3: Hähne, F: Füllstutzen, K: Kühlung, M: Magnetstab, P: Stutzen für Probennahme.

Die Algen wurden wie in Kapitel 2.2.5.2 vorbereitet und in das beleuchtete Kulturgefäß eingebracht, wobei gleichzeitig über den Probennahmestutzen P eine entsprechende Menge an Medium

entweichen konnte. Es stellte sich eine geringe Anfangskonzentration an Luftsauerstoff ein, die in der Auswertung berücksichtigt wurde. Eine erfolgreiche Inoculation führte zu spontaner Sauerstoff-Produktion und entsprechender Anzeige am Meßgerät bzw. auf dem Schreiber (Fa. W+W). In einigen Fällen sehr intensiver Produktion schieden sich trotz der vorhergehenden Entgasung im Deckel Gasblasen ab. Diese wurden durch kurzzeitige starke Rührung vereinigt und mit frischem Medium verdrängt.

Die Vakuumapparatur zur Extraktion von Gasproben (Abb. 4) wurde über eine Quecksilber-Diffusionspumpe und eine Rotationspumpe (Fa. LEYBOLD) auf $<10^{-3}$ Torr evakuiert. Die Kühlfallen KF 1 und KF 2 wurden mit Trockeneis/Aceton auf -78°C und die Kühlfalle KF 3 mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlt. Die Falle KF 1 ist mit einem Schliff versehen und kann ausgetauscht werden, wenn sich zuviel Eis gebildet hat. Das Adsorptionsgefäß AG enthält Molekularsieb $5\text{ \AA}$ (Fa. MERCK) und wurde im Vakuum bis ca. 350°C ausgeheizt. An den Stellen GP wurden Gas-Pipetten angeschlossen und evakuiert. Die Kühlung im Kühler K erfolgte durch den gleichen Kühlkreislauf wie die Kühlung des Kulturgefäßes mit einem Kühlthermostat der Fa. COLORA. Der Druckverlauf wurde mit den beiden Druckmeßröhren DM 1 und DM 2 und einem Combitron-Anzeigegerät (Fa. LEYBOLD, Typ Thermovac, Meßbereich 760 bis 10^{-3} Torr) gemessen und auf einem Schreiber (Fa. LINSEIS) aufgezeichnet.

2.2.6.3 Probennahme

Zur Isotopenanalyse des Wassers sowie zur mikroskopischen Kontrolle der Kultur und zur Chlorophyll-Bestimmung wurde die Rührung abgeschaltet und über die Hähne 1 und 3 (Abb. 3) das Flüssigkeitsniveau im Probennahmestutzen P bis dicht an die Unterkante abgesenkt. Sodann wurde über die Hähne 1 und 2 sowie den Füllstutzen Medium zugegeben und die Probe durch den Stutzen P ausgetrieben. Zur Probennahme wurde die Gaszuführung im Reservoir erhöht, um einen Lufteinstrom zu unterbinden.

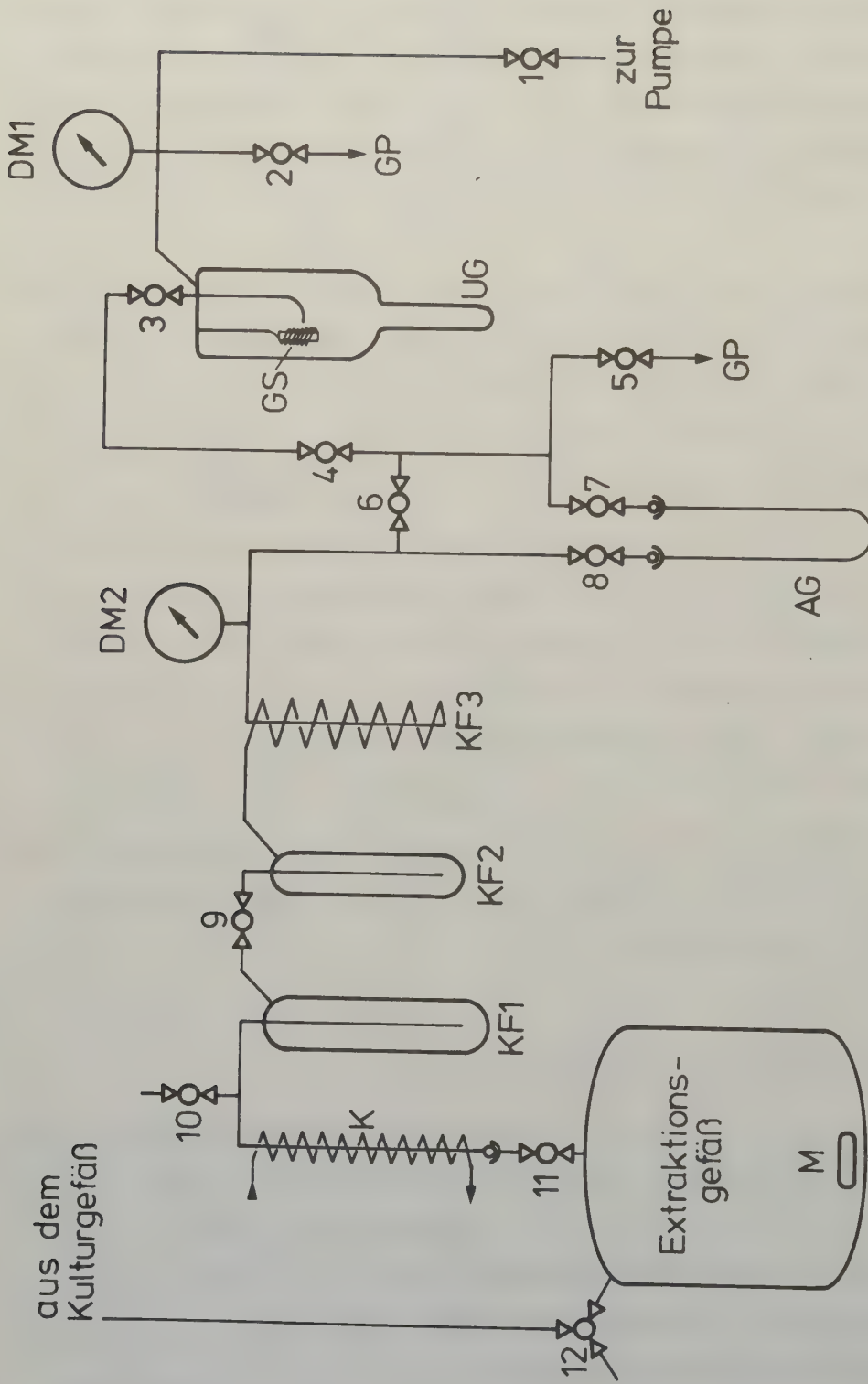


Abb. 4

Schematische Darstellung der Vakuum-Extraktionsanlage.

1 - 12: Hähne, AG: Adsorptionsgefäß, DM: Druckmeßröhre, GP: Anschluß für Gas-Pipetten, GS: Graphitscheibe im Platin-Netz, K: Kühler, KF: Kühlfallen, M: Magnetstab, UG: Umwandlungsgefäß.

Anschließend wird der Stutzen P über einen PVC-Schlauch an den Hahn 12 der Extraktionsapparatur (Abb. 4) angeschlossen, um Hahn und Schlauch zu spülen. Nach der Spülung wird der Flüssigkeitsstrom in das Extraktionsgefäß umgeleitet und ein Volumen von ca. 500 ml Medium eingelassen. Die Hähne 5, 6, 7 und 10 sind dabei geschlossen zu halten. Das Einfüllen des Wassers ist nach ca. 1 Minute beendet. Dann werden die Hähne 12 in Abbildung 4 sowie 1 und 2 in Abbildung 3 geschlossen und die Rührung im Kulturgefäß wieder angestellt. Durch das Vakuum und intensive Rührung im Extraktionsgefäß werden die gelösten Gase aus dem Wasser entfernt.

Der Verlauf einer Extraktion (linke Bildhälfte, registriert über Meßröhre DM 2) und anschließenden Umwandlung (rechte Bildhälfte, registriert über Meßröhre DM 1) ist in Abbildung 5 dargestellt. Die extrahierte Gasmenge erzeugt den angezeigten Gasdruck. Sodann wird Hahn 7 langsam geöffnet und das Gasgemisch durch das mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlte Adsorptionsgefäß gesaugt. Der Wasserdampf wird im Kühler K vorgekühlt und friert in den Kühlfallen KF 1 und KF 2 aus, das Kohlendioxid sublimiert in Falle KF 3. Die Restgase - Argon, Stickstoff und Sauerstoff - werden in dem Adsorptionsgefäß am Molekularsieb adsorbiert. Sobald der Druck an der Meßröhre DM 2 auf <0.05 Torr gefallen ist (Pfeil in Abb. 5), wird Hahn 11 geschlossen und Hahn 7 vollständig geöffnet. Wenn die Meßröhre DM 2 fast das ursprüngliche Vakuum anzeigt, ist die Extraktion beendet und die Hähne 8 und 9 werden geschlossen. Der gesamte Extraktionsvorgang dauert ca. 12 Minuten.

Die Umwandlung erfolgt in dem im rechten Abschnitt der Abbildung 4 dargestellten Teil der Apparatur. Zunächst wird Hahn 4 geschlossen, die Kühlung vom Adsorptionsgefäß entfernt und dasselbe auf ca. 325°C erhitzt. Nachdem Hahn 2 geschlossen wurde, wird von außen mit einem Punktstrahler (Fa. GEBR. BREIVOGEL, Typ Pluto, Leistung 1 kW bei 110 V) durch Fokussierung mit einem Reflektor eine mit einem Platindraht umwickelte Graphit-Scheibe aus reinster Spektralkohle im Umwandlungsgefäß auf ca. 1000°C erhitzt. Das führt zu einem als 'Peak 3' in Abbildung

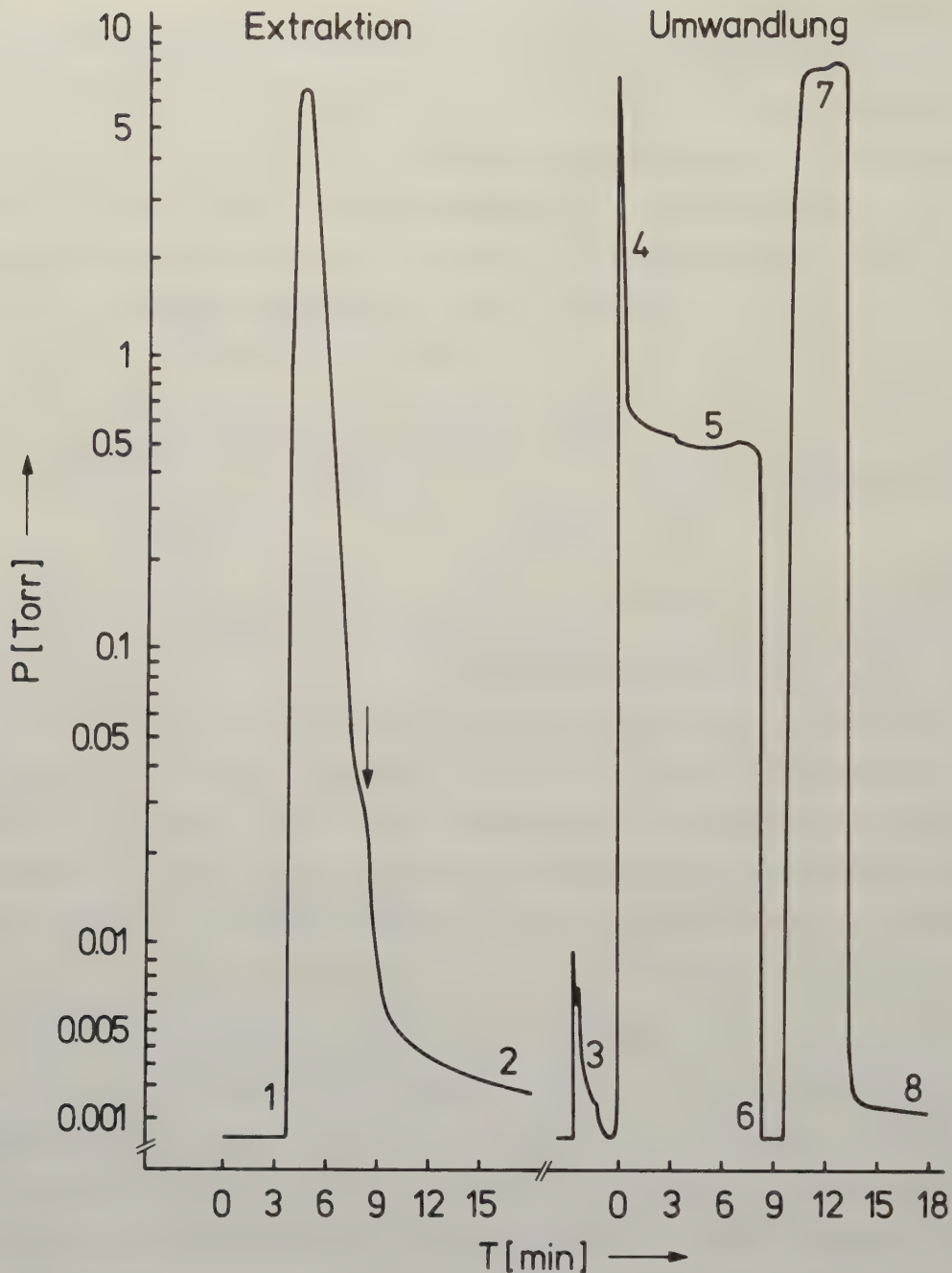


Abb. 5 Typischer Verlauf von Extraktion und Umwandlung einer Probe an der Vakuum-Extraktionsapparatur.

1: Anfangsvakuum, 2: Endvakuum nach Extraktion, 3: Druckanstieg durch Ausheizen der Graphitscheibe, 4 und 5: Anfangsdruck und Restdruck bei der Umwandlung $O_2 + C \rightarrow CO_2$, 6 - 8: Anfangsvakuum, Maximaldruck und Endvakuum bei der Kondensation des ausgefrorenen Kohlendioxids in eine Gas-Pipette. Zu dem mit dem Pfeil angezeigten Zeitpunkt wird Hahn 11 in Abb. 4 geschlossen (vgl. Text).

5 sichtbaren kurzzeitigen Druckanstieg an der Meßröhre DM 1. Zur Umwandlung wird Hahn 1 geschlossen und Hahn 4 geöffnet. Die inzwischen desorbierten Gase expandieren in den Umwandlungsraum ('Peak 4' in Abb. 5), der Sauerstoff verbrennt an der Kohle und das gebildete Kohlendioxid wird durch Kühlung des unteren Teils des Umwandlungsgefäßes mit flüssigem Stickstoff auf -196°C ausgefroren, so daß ein Druckabfall registriert werden kann. Während der ganzen Umwandlung wird die Temperatur des Adsorptionsgefäßes auf ungefähr 300°C gehalten. Nach 6 bis 8 Minuten ist die Umwandlung beendet und Hahn 3 wird geschlossen. Der verbleibende Restdruck (Nr. 5 in Abb. 5) von im allgemeinen weniger als 10 % des Ausgangsdrucks wird durch die Restgase verursacht. Diese werden über Hahn 1 abgepumpt und Hahn 2 wird geöffnet. Nachdem das ursprüngliche Vakuum erreicht ist (Nr. 6 in Abb. 5), wird Hahn 1 erneut geschlossen, das Umwandlungsgefäß erwärmt und das Kohlendioxid über Hahn 2 in eine Gas-Pipette umkondensiert (Nr. 7 in Abb. 5). Die Bestimmung der Menge des gebildeten Kohlendioxids erfolgt in einer Vakuumapparatur nach FÖRSTEL et al. (1974) durch Messung des Drucks in einem definierten kleinen Volumen. Abschließend wird die Anlage über Hahn 10 bis Hahn 9 belüftet, das Volumen des extrahierten Wassers bestimmt und das Extraktionsgefäß sowie die ganze Anlage erneut evakuiert.

Mit einer Zusatzeinrichtung kann über Hahn 5 in Abbildung 4 auch ein Adsorptionsgefäß aus den Versuchen mit Gasphase (vgl. Kap. 2.2.5.3) angeschlossen werden. Dabei wird dann zuerst aus dem noch mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlten U-Rohr das Helium abgepumpt und erst dann wie oben weiter verfahren. Dabei bleiben die Hähne 6 und 7 geschlossen.

2.2.6.4 Extraktion von Kohlendioxid zur Bestimmung des $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisses im Gesamt-Karbonat

Die Extraktion von Kohlendioxid erfolgt direkt im Anschluß an eine Sauerstoff-Extraktion. Über Hahn 12 werden 5 ml 85 %ige H_3PO_4 in das Extraktionsgefäß gegeben. Die Hähne 9 und 11 werden erneut geöffnet, die Hähne 4, 5, 7 und 8 sind geschlossen,

Hahn 6 bleibt offen. Es stellt sich wiederum ein Gasdruck ein, und das Gasgemisch, das jetzt vor allem Kohlendioxid enthält, wird durch langsames Öffnen von Hahn 4 durch die Kühlfalle KF 3 gesaugt, wo das Kohlendioxid durch die Stickstoff-Kühlung ausgefroren wird. Die Extraktion wird wie oben beschrieben beendet und Hahn 4 geschlossen. Dann wird die Kühlfalle KF 3 mit Trockeneis/Aceton auf -78°C gekühlt und das freigesetzte Kohlendioxid über die Hähne 5 und 6 in eine Gas-Pipette überkondensiert.

2.2.6.5 Eichversuche

Um zu untersuchen, ob die Extraktion bzw. Extraktion und Umwandlung möglicherweise eine Verschiebung des ursprünglich vorliegenden Isotopenverhältnisses bewirken, wurden Eichversuche durchgeführt. Zum einen wurden Gas-Pipetten paarweise mit reinem Standard-Sauerstoff gefüllt und eine davon direkt an Hahn 5 angeschlossen und umgewandelt. Zum anderen wurde die zweite Gaspipette anstelle des Extraktionsgefäßes angeschlossen und der Sauerstoff vor der Umwandlung erst wie bei einer Extraktion behandelt. Zum dritten wurde nach Beendigung eines Versuches ein Teil des Mediums abgelassen, die restliche Kulturflüssigkeit mit 10 bis 15 ml 0.3 %iger HgCl_2 -Lösung versetzt und aller Sauerstoff mit Helium ausgetrieben. Danach wurde vorsichtig Standard-Sauerstoff bis zu einer Sauerstoff-Konzentration von maximal $15 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ eingespült. Dann wurde die Begasung abgestellt und das Kulturgefäß erneut luftblasenfrei gefüllt. Durch fortlaufende Probennahme konnte somit der ganze in Frage kommende Konzentrationsbereich von 3 bis $15 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ erfaßt werden.

2.2.7 Massenspektrometrie

2.2.7.1 Prinzipieller Aufbau eines Massenspektrometers

Im folgenden werden prinzipieller Aufbau und Wirkungsweise eines Massenspektrometers nur kurz skizziert; detailliertere Informationen sind aus BRUNNEE-VOSHAGE (1964) zu entnehmen. Das Prinzip der qualitativen und quantitativen massenspektrome-

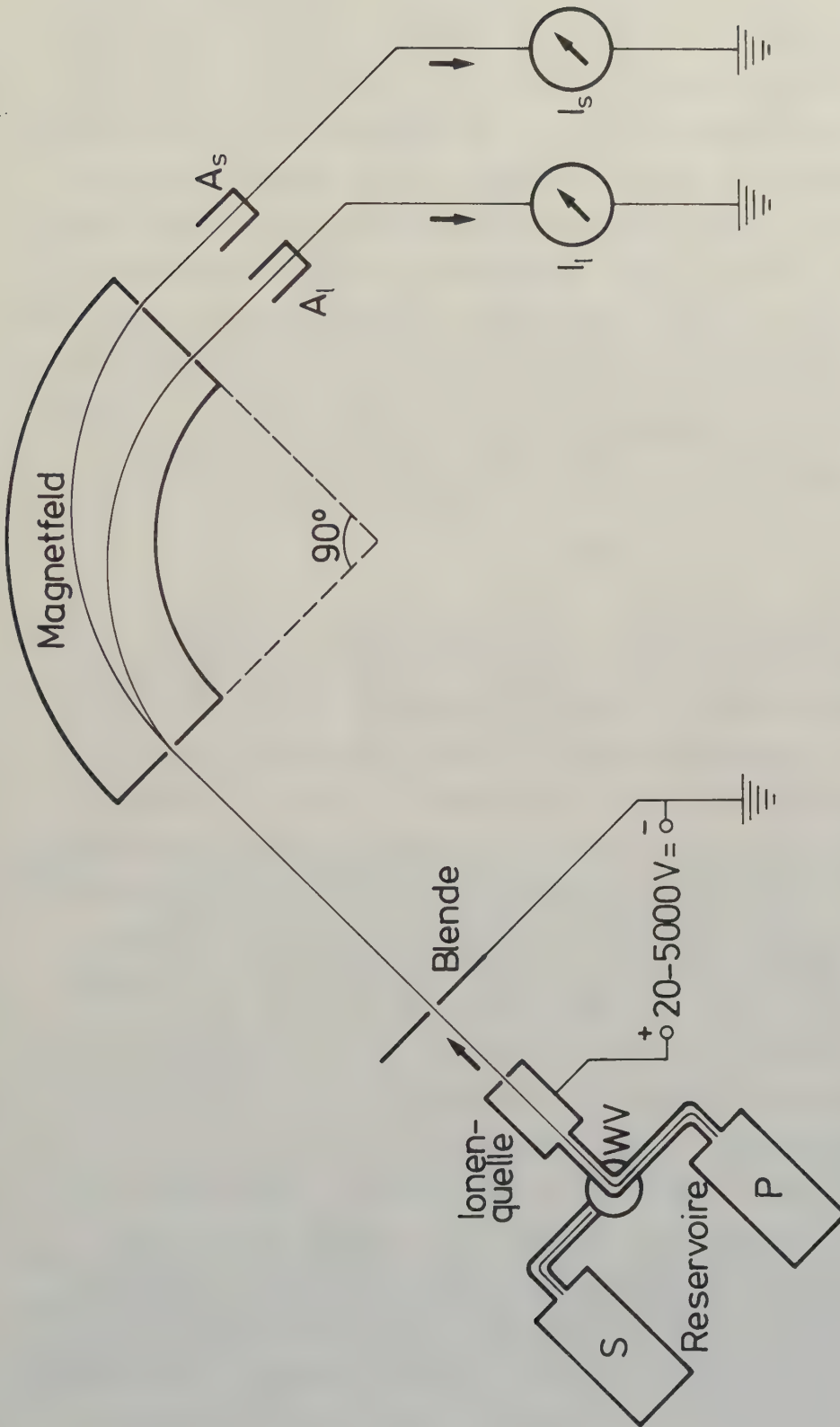


Abb. 6

Schematische Darstellung des Funktionsprinzips des verwendeten Massenspektrometers. Die Feldlinien des Magnetfeldes stehen senkrecht auf der Bildebene. A: Ionenauffänger, I: Ionenstromnachweis, S: Standard, P: Probe, WV: Wechselventil. Die Indizes 1 und s stehen für leichte bzw. schwere Ionen.

trischen Substanzanalyse geht aus Abbildung 6 hervor. Die zu analysierende Gasprobe wird einer Ionenquelle zugeführt, wo die Atome bzw. Moleküle durch beschleunigte Elektronen aus einer Glühkathode ionisiert, d.h. positiv geladen werden. Sie werden sodann durch ein elektrisches Feld beschleunigt und bilden ein bewegtes Bündel geladener Teilchen, an welchem in einem Magnetfeld elektromagnetische Kräfte wirksam werden können, die zu einer Aufspaltung in räumlich getrennte Bündel von Ionen einheitlicher Masse führen. Diese Ionenbündel werden aufgefangen, wobei sie ihre Ladung abgeben und einen Strom erzeugen, der der Intensität des Ionenbündels proportional ist. Der vollständige Trennungsgang besteht also aus Probenzuführung, Ionenerzeugung, Massentrennung und Ionennachweis. Ionenerzeugung und Massentrennung werden im Hochvakuum bei einem Druck von $< 10^{-6}$ Torr durchgeführt.

Das für die vorliegende Arbeit verwendete Gerät Micromass 602 C (VAKUUM GENERATORS, U.K.) ist ein speziell für Isotopenverhältnismessungen konstruiertes Massenspektrometer mit einem 90° Magnetfeldsektor, Doppelauffänger und Doppeleinlaßsystem für viskosen Gaseinstrom. Die beiden Auffänger sind so ausgerichtet, daß bei einer Isotopenverhältnismessung gleichzeitig das leichte und das schwere Isotop gemessen werden. Der Quotient aus beiden Strömen ($\frac{I_S}{I_L}$) ist somit unabhängig von zeitlichen Schwankungen der Ionenproduktion. Beide Ströme werden mittels einer Meßbrückenschaltung mit dem Meßbrückenfaktor MF etwa zu Null kompensiert und die Restverstimmung, wie in Abbildung 7 dargestellt, auf einem Schreiber aufgezeichnet. Die beiden Reservoirs für Standardgas S und Probengas P verfügen über ein variables Volumen von 10 bis 70 ml, so daß für beide Gase gleicher Druck in der Ionenquelle eingestellt werden kann. Durch das Wechselventil WV wird abwechselnd Probengas und Standardgas in die Ionenquelle eingelassen, das Isotopenverhältnis jeweils für 1 Minute gemessen und nach elektronischer Integration über die Meßzeit gemittelt.

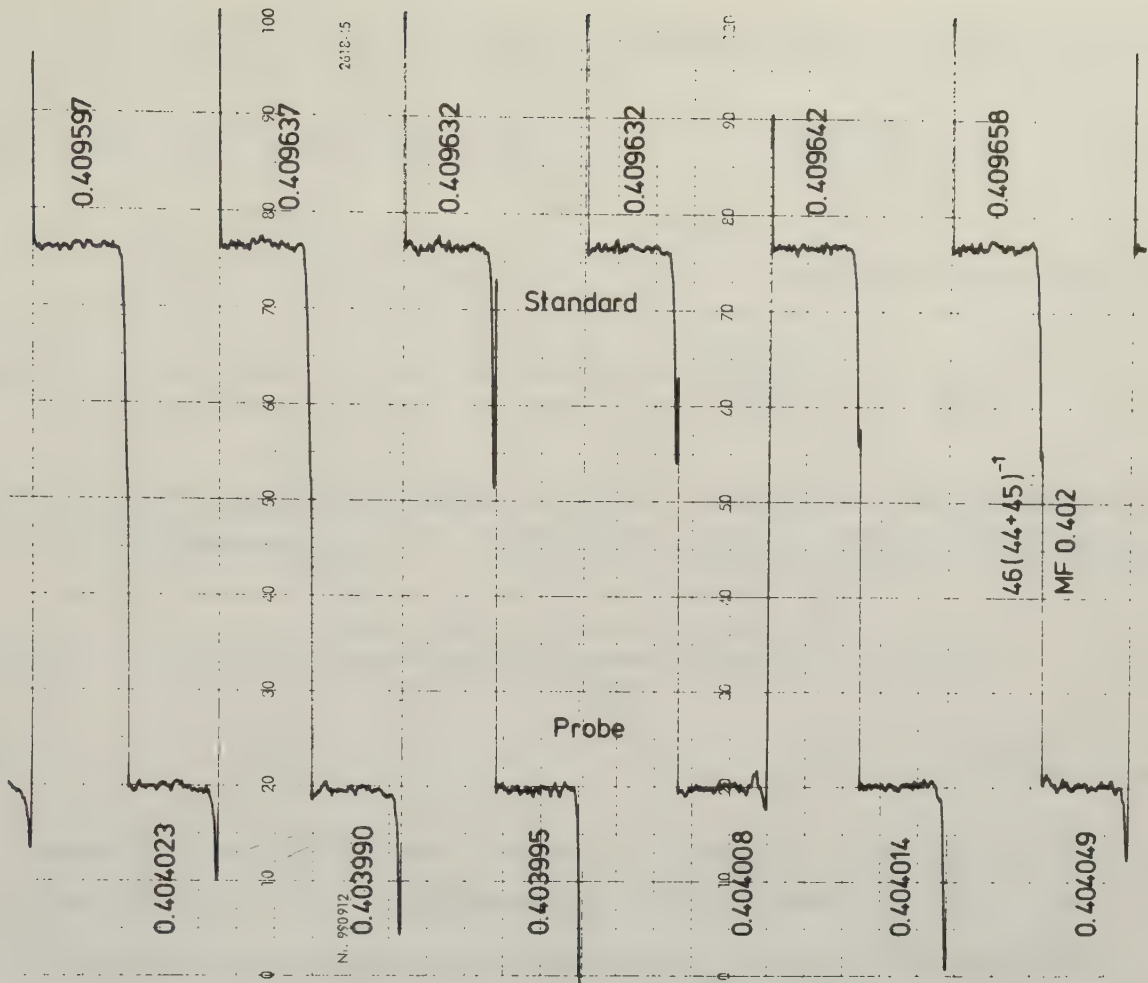


Abb. 7 Originalaufzeichnung einer massenspektrometrischen Messung von umgewandeltem Sauerstoff.
MF: Meßbrückenfaktor. Die Zahlen entsprechen den Werten (MF + P) für die Probe bzw. (MF + S) für den Standard.

2.2.7.2 Massenspektrometrische Messung und Auswertung

Im folgenden bedeutet R das Verhältnis des schweren Isotops zum leichteren, dabei gibt die Indexzahl die Masse des schweren Ions an.

$$R = \frac{I_s}{I_l}$$

und die Indizes p und s stehen für Probe bzw. Standard. Die relative Isotopenverschiebung δ - bezogen auf das Standardgas

im Massenspektrometer - beträgt dann

$$\delta = \frac{R_p - R_s}{R_s} \quad (7)$$

oder als Promille-Wert

$$\delta[\text{‰}] = \frac{R_p - R_s}{R_s} \cdot 10^3. \quad (7a)$$

Der eigentliche Wert für δ wird aus sechs Messungen von Standardgas und Probengas gemäß SCHLESER (1977) berechnet nach

$$\delta[\text{‰}] = \frac{(R_o + MF_p + \bar{S} + \bar{Y}) - (MF_s + \bar{S})}{MF_s + \bar{S}} \cdot 10^3. \quad (8)$$

Dabei bedeuten

R_o : Korrekturwert, um den bei großen Isotopenverschiebungen der Meßbrückenwert der Probe vergrößert oder verkleinert werden kann,

MF: Meßbrückenfaktor,

S : Wert der Integrationseinheit für Messungen des Standardgases, entspricht dem gemittelten Wert des aufgezeichneten Schreiberausschlags,

P : Wert der Integrationseinheit für Messungen des Probengases, entspricht dem gemittelten Wert des aufgezeichneten Schreiberausschlags,

n : Anzahl der Meßwiederholungen (im Normalfall gilt $n=6$).

Im einzelnen sind folgende Schritte zur Herleitung zu befolgen:

1. Differenzenbildung:

$$\begin{array}{ll} D_1 = P_1 - S_1 & D_2 = P_2 - S_1 \\ D_3 = P_2 - S_2 & D_4 = P_3 - S_2 \quad \text{etc.} \end{array}$$

bis $D_{11} = P_6 - S_6$.

2. Bildung gleitender Differenzen:

$$Y_v = \frac{D_v + D_{v+1}}{2}, \quad v = 1, 2, \dots, (2n-2).$$

3. Mittelung der gleitenden Differenzen

$$\bar{Y} = \frac{\sum_{v=1}^{2n-2} Y_v}{2n-2}$$

bzw. der Standardmessungen:

$$\bar{S} = \frac{\sum_{n=1}^n S_n}{n}.$$

Im allgemeinen ist der Meßbrückenfaktor MF für Probengas und Standardgas identisch, so daß sich die Formel 8 vereinfachen läßt zu

$$\delta[\text{‰}] = \frac{R_O + \bar{Y}}{MF + \bar{S}} \cdot 10^3. \quad (9)$$

Dieser Wert wird von einem an das Massenspektrometer angeschlossenen Rechner direkt im Anschluß an die Messung ausgerechnet und für die weiteren Auswertungen verwendet.

Die Messung liefert - wie oben ausgeführt - nur relative Werte der Isotopenverschiebungen. Um Messungen verschiedener Laboratorien vergleichen zu können, werden die internen Massenspektrometer-Standards mit einem internationalen Standard verglichen. Für $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Messungen ist ein Meerwasser bestimmter Herkunft (Standard Mean Ocean Water) als Standard akzeptiert und wird als VIENNA-SMOW von der IAEA (International Atomic Energy Agency) mit Sitz in Wien vertrieben (GONFIANTINI, 1978).

Für die unten dargestellte Ableitung gelten folgende Indizes:
 a = Ausgangsstandard (VIENNA-SMOW), m = massenspektrometrischer
 Standard und p = Probe. Die Messung ergibt

$$\delta_{p, m} = \frac{R_p - R_m}{R_m} \quad (10)$$

bzw.

$$\delta_{a, m} = \frac{R_a - R_m}{R_m} \quad (11)$$

Der Wert $\delta_{a, m}$ wird aus der Isotopenverschiebung von Kohlendioxid ermittelt, das wie in Kapitel 2.2.4 beschrieben mit VIENNA-SMOW äquilibriert worden ist.

Gesucht wird aber

$$\delta_{p, a} = \frac{R_p - R_s}{R_s} \quad (12)$$

Einsetzen und Umformen führt zu folgender Formel:

$$\delta_{p, a} = \frac{\delta_{p, m} - \delta_{a, m}}{\delta_{a, m} + 1} \quad (12a)$$

nach welcher alle Messungen als Anreicherungen bzw. Abreicherungen gegenüber dem internationalen Standard angegeben werden können.

Alle Messungen wurden mit Kohlendioxid als Meß- und Standardgas gemessen. Dabei wurden die Massen 44, 45 und 46 entsprechend den Molekülen $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ und $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$ berücksichtigt. Ähnlich wurden bei Messungen von reinem Sauerstoff nur die Massen 32 und 34 für $^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ und $^{16}\text{O}^{18}\text{O}$ beachtet. Wie aus den Tabellen 1 und 2 ersichtlich ist, sind alle anderen Isotopenkombinationen so selten, daß ihr Beitrag zur Messung vernachlässigt werden kann. Die Werte für die natürlichen Häufigkeiten wurden aus KRUMBIEGEL (1970) entnommen.

Tabelle 1 Natürliche Häufigkeit der Sauerstoff- und Kohlenstoffisotope in %.

Isotop	Häufigkeit
^{12}C	98.89
^{13}C	1.11
^{16}O	99.765
^{17}O	0.036
^{18}O	0.199

Tabelle 2 Errechnete Häufigkeiten der verschiedenen Isotopenkombinationen in %.

Kombination	Häufigkeit
$^{16}\text{O}^{16}\text{O}$	99.530
$^{16}\text{O}^{17}\text{O}$	0.072
$^{16}\text{O}^{18}\text{O}$	0.397
$^{17}\text{O}^{17}\text{O}$	$1.3 \cdot 10^{-5}$
$^{17}\text{O}^{18}\text{O}$	$1.4 \cdot 10^{-4}$
$^{18}\text{O}^{18}\text{O}$	$4.0 \cdot 10^{-4}$
$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$	98.426
$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$	0.072
$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$	0.393
$^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$	1.105
$^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$	$8.0 \cdot 10^{-4}$
$^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$	$4.4 \cdot 10^{-3}$

Bei der Messung von Kohlendioxid wird konstruktionsbedingt das Verhältnis der Ionen 46 zu (44+45) registriert. Der zur Verbrennung benutzte Kohlenstoff liefert dabei einen gewissen Anteil zur Masse 45, so daß zum Meßwert

$$R_{46} = \frac{{}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{18}\text{O}}{{}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{16}\text{O} + {}^{13}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{16}\text{O}}$$

nach SCHLESER (1977) -0.251‰ als Korrekturterm addiert werden muß. Nach erfolgter Korrektur entspricht R_{46} dann dem Wert

$$R_{34} = \frac{{}^{16}\text{O}{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}{}^{16}\text{O}} .$$

Das Isotopenverhältnis im internationalen Standard ist aber als $R_{18} = \frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}}$ (entsprechend dem eigentlichen Verhältnis $R_{20} = \frac{\text{H}_2{}^{18}\text{O}}{\text{H}_2{}^{16}\text{O}}$) festgelegt. Zwischen R_{18} und R_{34} besteht die Beziehung

$$R_{34} = \frac{2 R_{18}}{1 - R_{18}} . \quad (13)$$

Nach SCHLESER (1977) sind bei der geringen natürlichen Häufigkeit des schweren Isotops die Unterschiede so gering, daß selbst bis zu Verschiebungen von $\delta = \pm 100\text{‰}$ bei Gleichsetzung von R_{34} und R_{18} der δ -Wert mit einem Fehler von weniger als 0.25‰ behaftet ist.

Aus Formel (12) folgt für das Verhältnis der R-Werte

$$\frac{R_p}{R_a} = \delta_{p,a} + 1 . \quad (14)$$

Man kann also aus der Kenntnis der Isotopenverschiebung eines Probengases gegenüber dem massenspektrometrischen Standard bzw. dem internationalen Ausgangsstandard und der Kenntnis des Absolutwertes für R_{18} des Standards den R_{18} -Wert für das Probengas errechnen. Der Absolutbetrag für R_{18} im VIENNA-SMOW ist der Arbeit von BAERTSCHI (1976) zu entnehmen, die außerdem auch noch den zugehörigen Absolutwert des Atombruches von ${}^{18}\text{O}$

$$X_{18} = \frac{R_{18}}{1 + R_{18}} \quad \text{enthält.}$$

Im einzelnen gelten folgende Beziehungen:

$$R_{18} = \frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}} \quad X_{18} = \frac{R_{18}}{1 + R_{18}}$$

$$R_{34} = \frac{2 R_{18}}{1 - R_{18}} \quad X_{34} = 2 X_{18} .$$

X bezeichnet dabei im Falle X_{18} den Atombruch des ${}^{18}\text{O}$ -Atoms und im Falle X_{34} den Molenbruch des ${}^{16}\text{O}{}^{18}\text{O}$ -Moleküls. Das Verhältnis der Atom- bzw. Molenbrüche für ein Probengas bezogen auf den Ausgangsstandard lautet:

$$\frac{X_p}{X_a} = \frac{R_p + R_p R_a}{R_a + R_p R_a} .$$

Eine Gleichsetzung $\frac{X_p}{X_a} = \frac{R_p}{R_a}$ führt zu einem gleichfalls vernachlässigbar kleinen Fehler, so daß entsprechend Gleichung 14 auch die folgende Beziehung gilt:

$$\delta_{p, a} + 1 = \frac{X_p}{X_a} . \quad (15)$$

3. Ergebnisse

3.1 Allgemeine biologische Befunde

3.1.1 Wachstum in Stammkulturen und Röhrenkulturen

In den Stammkulturen bildeten die Algen sehr lange Ketten aus. Die Generationszeit bezogen auf die Zellzahl lag zwischen 24 und 36 Stunden. Nach 14 bis 21 Tagen erfolgte eine Überimpfung in neue Schalen mit einem Inoculum von 8 bis 16 Zellen. Nach ungefähr 4 Wochen stagnierte das Wachstum, die Ketten zerfielen, die Zellen wuchsen in der Pervalvarachse ohne Zellteilung, wurden dunkelbraun und begannen zum Schluß auszubleichen. Nach insgesamt 8 bis 12 Wochen konnten die Zellen auch in frischem Medium nicht mehr zum Wachsen gebracht werden.

Ein zeitweiliges Auftreten von kleinen sphärischen Flagellaten oder spindelförmigen Algen nicht näher untersuchter Natur konnte durch Verwendung pasteurisierten Mediums und gründliches Waschen des Inoculums unterbunden werden. Von gelegentlichen Wachstumsstörungen abgesehen, entsprechen die Ketten in Gestalt und Länge den von SCHÖNE (1972) definierten Kriterien für normales Wachstum.

Auch in den Röhrenkulturen zeigten die Algen im allgemeinen gutes Wachstum mit sowohl aus Zellzählungen als auch aus Chlorophyll-Messungen ermittelten Verdopplungszeiten von 9 bis 11 Stunden. Die Röhrenkulturen mußten etwa alle 3 bis 4 Tage mit einem Inoculationsvolumen von 1 bis 5 ml überimpft werden. Nach spätestens 4 bis 5 Tagen hatte die Kultur die stationäre Phase erreicht. Während des logarithmischen Wachstums konnten Ketten von maximal 32 Zellen pro Kette und 'normaler' Gestalt gefunden werden.

Auxosporenbildung trat sowohl in Stammkulturen als auch in Kulturröhren auf, und in beiden Fällen konnten neue Klone isoliert werden. Der für die Versuche mit Gasphase verwendete Stamm S

wurde am 17.5.77 und der in den Versuchen ohne Gasphase eingesetzte Stamm W am 3.10.77 aus Kulturröhren isoliert.

3.1.2 Reproduzierbarkeit von Zellzählung und Chlorophyll-Bestimmung

Die Zellzählung ist naturgemäß mit einer relativ großen Unsicherheit behaftet, da nur kleine Volumina als Stichproben untersucht werden. Die Variationskoeffizienten (v) liegen meist zwischen 10 und 20 %. Dennoch kann der Zählung eine gewisse Aussagekraft zugesprochen werden, da Mehrfachzählungen einer identischen Probe in verschiedenen Verdünnungen für den Mittelwert Variationskoeffizienten von 6.25 %, 8.93 % und 13.12 % ergaben, während die Variationskoeffizienten der Einzelmessungen dieser Serie zwischen 5.1 und 43.4 % schwankten.

Die Reproduzierbarkeit der Chlorophyll a - Bestimmung ist im allgemeinen größer als bei der Zellzählung. Die Variationskoeffizienten für Messungen identischer Proben in verschiedenen Verdünnungen liegen zwischen 2.5 und 9.8 % mit zwei Ausreißern von 12.6 und 16.2 %. Eine Mehrfach-Messung identischer Proben gleicher Konzentration zeigte einen Variationskoeffizienten von 1.8 %. Eine relative Genauigkeit von ± 1.8 % des Mittelwertes stellt somit wohl die obere Grenze dar. Sie wird durch die Genauigkeit beim Pipettieren, die Homogenität der Suspension und die Ablesegenauigkeit am Photometer bedingt. Ein Unterschied in der Extinktion von 0.001 bedeutet entsprechend Formel 1 von JEFFREY und HUMPHREY (1975) (vgl. Kap. 2.1.6) einen Unterschied von 0.28 ng Chlorophyll a ml^{-1} . Die absolute Genauigkeit wird zusätzlich noch durch die Probennahme und den Photometerabgleich bzw. die Korrekturfaktoren E_{750} und E_{BW} (s.u.) herabgesetzt und liegt schätzungsweise bei ± 5 % des Meßwertes.

Es ist empfehlenswert, die Küvetten zwischen den Messungen in gedämpftem Licht oder im Dunkeln aufzubewahren, da bei einer Konzentration von z.B. 163.3 ng Chlorophyll a ml^{-1} ($E'_{664} = 0.114$) direkte Sonneneinstrahlung den Chlorophyll a -

Gehalt um 1.4 % pro Minute reduziert, was bei einer Meßdauer von 3 bis 5 Minuten zu einem gewissen Fehler führen kann.

Die Extinktion E' wird aus der gemessenen Extinktion E durch Subtraktion des Trübungsbeitrages E_{750} und Subtraktion des für die betrachtete Wellenlänge gemessenen Extinktionsbeitrags des Blindwertes E_{BW} errechnet nach

$$E'_{\lambda} = E_{\lambda} - E_{750} - E_{BW, \lambda} \quad (16)$$

Die Werte für E_{750} liegen zwischen 0.002 und maximal 0.067, zu 56 % aber im Bereich von 0.002 bis 0.009. Der Beitrag von E_{BW} schwankt zwischen -0.001 und 0.005 für 664 und zwischen -0.004 und 0.005 für 630 nm. Er beträgt im Mittel aus 50 Versuchen 0.00092 für 664 nm und 0.00016 für 630 nm.

Die Bestimmung von Chlorophyll c ist nach Formel 1a aus Kapitel 2.1.6 ebenfalls möglich, aber die Resultate sind wesentlich ungenauer. Die Variationskoeffizienten von Messungen identischer Proben in abgestuften Verdünnungen liegen zwischen 40.4 und 103.7 %. Das Verhältnis ng Chlorophyll c / (ng Chlorophyll a + ng Chlorophyll c) liegt in diesen Proben zwischen 0 und 47.5 % mit einer Häufung im Bereich von 5 bis 20 %. Die Variationskoeffizienten reichen dabei von 16.4 bis 100 %.

Die Beziehung zwischen E'_{664} und dem Gehalt an Chlorophyll a folgt dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz und gilt streng genommen nur für verdünnte Lösungen. In einer Meßreihe mit unterschiedlichen Zugaben von Algensuspension zeigte sich, daß die Werte für E'_{664} im Bereich von 0.012 bis 0.256 sehr gut mit den eingesetzten Volumina (2 bis 30 ml) linear korreliert sind (7 Wertepaare, $r = 0.9998$). Man kann also davon ausgehen, daß im normalen Meßbereich eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und Pigmentgehalt besteht.

Die Lagerung der gefilterten Algen bei -20°C hat über einen langen Zeitraum keinen Einfluß auf den Chlorophyll a - Gehalt.

Wie Tabelle 3 zeigt, ist erst ab 90 Tagen Lagerzeit mit einem deutlichen Abfall zu rechnen. Für die Algenversuche wurden die Proben aber höchstens 14 Tage lang aufbewahrt.

Tabelle 3 Einfluß der Lagerzeit (in Tagen) bei -20°C auf den Chlorophyll a - Gehalt filtrierter Algenproben in %, bezogen auf den Anfangswert = 100 %.

Lagerzeit	Gehalt	
	Versuch 1	Versuch 2
0	100.0	100.0
1	94.7	-
2	111.1	-
3	100.6	100.0
4	98.8	-
5	106.4	100.0
6	97.1	-
12	-	101.8
90	-	96.6
138	-	91.3

Für einige Proben wurden Zellzählung und Chlorophyll-Bestimmung gleichzeitig durchgeführt, so daß eine Abschätzung des Chlorophyll a - Gehaltes pro Zelle möglich ist. In drei Vorversuchen mit verschiedenen Verdünnungen jeweils identischer Proben ergaben sich Werte von 15.4 bis 24.0 pg Chlorophyll a pro Zelle ($v = 6.3$ bis 13.1 %). Bei drei Versuchen mit Gasphase lagen die Mittelwerte zwischen 17.1 und 24.0 pg Chlorophyll a pro Zelle. Hier war die Streuung bereits größer ($v = 2.6$ bis 17.9 %), ohne allerdings unbedingt eine Veränderung des Gehaltes mit steigendem Kulturalter anzuzeigen. Bei zwei Versuchen ohne Gasphase deutet sich hingegen eine Zunahme des Chlorophyllgehaltes von 25.7 pg pro Zelle zu Beginn auf 39.6 bzw. 44.3 pg pro Zelle am

Ende der Lichtphase an. Die Zunahme setzt ungefähr 3 Stunden nach Lichtbeginn ein. Für die Versuche mit Gasphase wurden Algen vom Stamm S und für die Versuche ohne Gasphase Algen vom Stamm W verwendet.

Der Mittelwert aus allen Bestimmungen beträgt 24.2 pg Chlorophyll a pro Zelle mit einem Variationskoeffizienten von 31.7 %, unter Nichtbeachtung der Versuche ohne Gasphase enthalten die Zellen im Mittel 20.4 pg Chlorophyll a ($v = 19.7 \%$), die Werte aus den Versuchen ohne Gasphase alleine ergeben ein Mittel von 33.32 pg Chlorophyll a pro Zelle ($v = 19.7 \%$). Alle Mittelwerte sind mit Standardabweichung in Tabelle 3a aufgeführt.

Tabelle 3a Gehalt an Chlorophyll a (pg Chlorophyll pro Zelle) in verschiedenen Meßserien, n = Anzahl der Messungen.

Meßserie	Gehalt	n
Eichversuch 1	15.40 $\pm$ 0.96	4
Eichversuch 2	22.98 $\pm$ 1.59	4
Eichversuch 3	23.96 $\pm$ 3.15	5
Versuch 9, mit Gasphase	23.96 $\pm$ 0.64	5
Versuch 10, mit Gasphase	17.10 $\pm$ 2.66	6
Versuch 11, mit Gasphase	19.43 $\pm$ 3.48	7
Versuch 24, ohne Gasphase	33.85 $\pm$ 7.62	6
Versuch 25, ohne Gasphase	32.86 $\pm$ 6.13	7

Eine Varianzanalyse der ersten sechs Werte in der obigen Tabelle zeigt, daß die Mittelwerte nicht aus einer Grundgesamtheit stammen; allerdings ist auch durch den Vergleich einzelner Mittelwerte mit dem t-Test keine eindeutige Zuordnung möglich. Demgegenüber sind alle oben genannten Daten auf dem 95 % - Sig-

nifikanzniveau gesichert von den Mittelwerten aus Versuchen ohne Gasphase verschieden, während diese untereinander keinen signifikanten Unterschied aufweisen.

In synchronen Diatomeen-Kulturen zeigt sich ein deutlicher Einfluß der Photoperiode auf den Gehalt der Zellen an Chlorophyll-a (z.B. JØRGENSEN, 1966). Für marine Populationen aus dem Freiland sind Einflüsse der Photoperiode auf die Pigment-Konzentration im Wasser bekannt (SOURNIA, 1974). Schließlich fand BILO (1977) an Schalenkulturen von *T. rotula* ebenfalls eine Abhängigkeit des Chlorophyll-Gehalts von der Photoperiode, ohne daß die Kulturen unbedingt als synchron anzusehen waren. Es ist nicht auszuschließen, daß die Zeitpunkte der Probennahme in den Versuchen mit Gasphase (vgl. Abb. 12) zufällig so lagen, daß eine mögliche Veränderung im Chlorophyllgehalt pro Zelle unbemerkt blieb, wohingegen sie in den Versuchen ohne Gasphase durch Probennahme im Abstand von 90 Minuten deutlich wurde. Da die Gasumsatzraten ohnehin auf den Pigmentgehalt im Medium und nicht auf die Zellzahl bezogen werden (vgl. Kap. 3.4), ist fehlende Übereinstimmung zwischen diesen beiden Parametern ohne Belang.

3.1.3 Entwicklung des Chlorophyll-Gehaltes und morphologische Bewertung der Algen während der Versuche

Entsprechend den unterschiedlichen Kultivationsmethoden und Kulturvolumina ist die Entwicklung dieser beiden Parameter in den Versuchen mit bzw. ohne Gasphase sehr unterschiedlich.

Im Versuch mit Gasphase ist das eigentliche Kulturvolumen bis auf die periodische Entnahme eines kleinen Probevolumens zur Chlorophyll- bzw. Zellzahl-Bestimmung im allgemeinen ungestört. Die Kultur zeigt dementsprechend einen Verlauf wie in einer normalen Batchkultur. Die maximale Pigment-Konzentration beträgt 816 ng ml^{-1} für $322 \text{ } \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$. Die zugehörigen Verdoppelungszeiten sind in Kapitel 3.4.2.3 aufgeführt. Die maximalen Zelldichten belaufen sich auf 13.000 Zellen pro ml. Hierbei muß bereits eine beträchtliche gegenseitige Beschat-

tung der Zellen angenommen werden (siehe Kap. 3.2.2). Bei vorsichtiger Filtration können im Inoculum sogar noch Ketten mit maximal 16 Zellen nachgewiesen werden. Während der Versuche wurden maximal 32 Zellen pro Kette gefunden.

Morphologisch waren die Zellen bis auf gelegentliche Reizplasmolysen und Verdickungen zu Beginn der stationären Phase stets einwandfrei. Mit zunehmendem Alter nahm allerdings der Anteil an toten Zellen zu. Die bakterielle Mikroflora war nach lichtmikroskopischer Kontrolle im wesentlichen auf abgestorbene Zellen und Detrituspartikel beschränkt.

Demgegenüber stellt in den Versuchen ohne Gasphase jede Probenahme einen starken Eingriff in die Kultur dar, weil ca. 20 % des Kulturvolumens ausgetauscht werden. Das führt z.B. bei Temperaturen von $\leq 10^{\circ}\text{C}$ zu einem allmählichen Auswaschen der Kultur, so daß Nachinokulationen notwendig sind. Die Wuchsraten sind im einzelnen in Kapitel 3.4.2.3 aufgeführt. Mit zunehmendem Kulturalter verändern sich zwar die Zellen (wie in Versuchen mit Gasphase), aber es werden natürlich nicht die dort auftretenden maximalen Biomasse-Konzentrationen erreicht.

Die Inocula enthielten Ketten mit ebenfalls maximal 16 Zellen. Während der Kultivation wurden bestenfalls 19 Zellen pro Kette gefunden. Allerdings ist hier wie auch bei den Versuchen mit Gasphase zu berücksichtigen, daß eventuell durch die Probennahme und anschließende leichte Zentrifugation zur Konzentration der Algen eine Zerstörung größerer Ketten auftreten kann. Die Chlorophyll-Konzentration betrug maximal 128 ng ml^{-1} . Im Gegensatz zu den vorhergehend beschriebenen traten bei den Versuchen ohne Gasphase manchmal gehäuft Plasmaextrusionen und Abweichungen von der normalen Kreisgestalt (Ansicht in der Valvarebene) auf. Ob dies in den verschiedenen Stämmen (Stamm S für Versuche mit, Stamm W für Versuche ohne Gasphase) begründet oder experimentell bedingt ist, konnte nicht entschieden werden. Wenn auch seltener, so traten diese Deformierungen doch ebenfalls in Kulturröhren auf, was eventuell für die erste

Annahme sprechen könnte. Die bakterielle Begleitflora war auch hier hauptsächlich auf abgestorbene Zellen und Detritus beschränkt. Fremdinfectionen konnten weitgehend ausgeschaltet werden. Mit zunehmendem Kulturalter zeigte sich in beiden Versuchsarten vermehrte Vereinzelung und Verdickung der Zellen (vgl. Kap. 3.1.1) mit einer Steigerung des Anteils an toten Zellen und Bakterien.

Das kurzzeitige Auftreten von fast anaeroben Bedingungen zu Versuchsbeginn hat allem Anschein nach keinen nachteiligen Einfluß auf die Algen, sofern die Kultur beleuchtet wird. Eine fünfminütige Totalverdunkelung bei $0.47 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ führt allerdings bereits zum völligen Einstellen der Sauerstoff-Produktion bei anschließender Belichtung.

In den Versuchen mit Gasphase zeigen sowohl Zellzahl als auch Chlorophyll a - Konzentration exponentielles Wachstum (siehe Abb. 12, Seite 58). In den Versuchen ohne Gasphase ist diese Beziehung nur für die Chlorophyll a - Konzentration ausreichend erfüllt (vgl. Kap. 3.1.2).

3.2 Allgemeine physikalische Befunde

3.2.1 Drift und Temperatureffekt der Sauerstoff-Elektrode

In fast allen Fällen zeigte die benutzte Sauerstoff-Elektrode am Versuchsende eine um mindestens $0.1 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ vom Sollwert sowohl nach oben als auch nach unten abweichende Sauerstoff-Konzentration an. Bezogen auf die Laufzeit und unter Annahme einer linearen Zeitabhängigkeit dieser Drift liegen die Abweichungen im Bereich von $9.3 \cdot 10^{-5}$ bis $1.6 \cdot 10^{-3} \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Obwohl die Sauerstoff-Elektrode über eine eingebaute Temperaturkompensation verfügt, zeigte sich, daß bei Abweichungen der Eichtemperatur von der Meßtemperatur die Konzentrationsanzeige in einem luftblasenfreien Kulturgefäß in Abhängigkeit von der Meßtemperatur und der aktuellen Sauerstoff-Konzentration erheb-

lich schwanken kann. Zur Abschätzung des Ausmaßes dieses Effekts wurden bei verschiedenen Sauerstoff-Konzentrationen aufsteigende (erhöhte Anzeige) oder abfallende (verminderte Anzeige) Temperatursprünge unterschiedlicher Größen durchgeführt. Die entstehenden Mißweisungen zeigen, auf 1°C und $1\text{ ml O}_2\text{ l}^{-1}$ bezogen, eine deutlich positive Korrelation mit der angezeigten Sauerstoff-Konzentration. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 8 dargestellt.

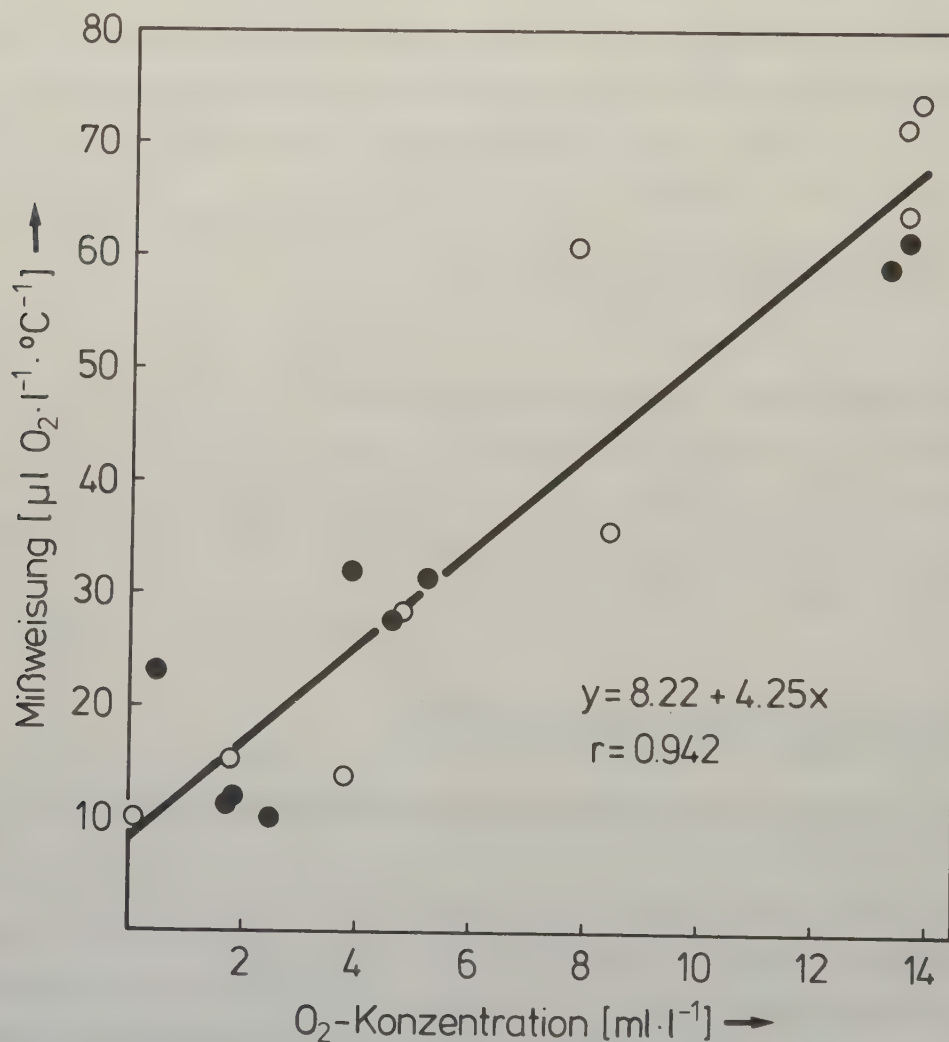


Abb. 8 Mißweisung der Sauerstoff-Elektrode bei Unterschieden zwischen Eichtemperatur und Meßtemperatur, bezogen auf 1°C und $1\text{ ml O}_2\text{ l}^{-1}$, als Funktion der angezeigten Sauerstoffkonzentration. Offene Kreise resultieren aus absteigenden, geschlossene aus aufsteigenden Temperatursprüngen.

Die eingezeichnete Regressionsgerade wurde durch einfache lineare Regression (Model I-Regression) ermittelt. Sie diente dazu, die tatsächlich vorliegende Sauerstoff-Konzentration während eines Versuches unter Berücksichtigung der Drift und der Differenz zwischen Eichtemperatur und Meßtemperatur nach folgender Formel zu errechnen:

$$c = (c' + (4.25 \cdot c' + 8.22) \Delta T \cdot 10^{-3}) f_d . \quad (17)$$

Dabei bedeuten:

c = tatsächliche Sauerstoff-Konzentration in $\text{ml O}_2 \text{ l}^{-1}$

c' = abgelesene Sauerstoff-Konzentration in $\text{ml O}_2 \text{ l}^{-1}$

ΔT = Unterschied zwischen Eichtemperatur und Meßtemperatur in $^{\circ}\text{C}$

f_d = Driftkorrektur, gemittelt für die betrachtete Licht- oder Dunkelphase .

Zur Messung mit polarographischen Sauerstoff-Elektroden muß die Elektrode stets genügend angeströmt werden (NÖSEL, 1969).

Eichung und Messung wurden bei einer Rührgeschwindigkeit von 250 Umdrehungen pro Minute durchgeführt. Schwankungen um $\pm 50 \text{ U min}^{-1}$ hatten auf die Konzentrationsanzeige keinen nennenswerten Einfluß. Ab einer Rührgeschwindigkeit von 300 U min^{-1} war keine Steigerung der Anzeige mehr festzustellen. Sobald die Elektrode Alterungserscheinungen zeigte, wurde sie regeneriert.

3.2.2 Bestimmung der mittleren Beleuchtungsintensität

Das Kulturgefäß wird durch einen mit Leuchtstoff-Röhren (OSRAM-L, 8W/25, Weiß) bestückten Lampenkranz beleuchtet. Der Lampenkranz ist in etwa konzentrisch angeordnet, aber die einzelnen Röhren sind nicht gleichmäßig über die Peripherie verteilt. Hierdurch und durch Reflexion an den Metallteilen im Beleuchtungskranz ergibt sich eine inhomogene Verteilung der Beleuchtungsintensität für verschiedene Positionen der Meßzelle im Kulturgefäß. Die genaue Anordnung von Kulturgefäß und Lampen-

kranz ist aus Abbildung 9 ersichtlich.

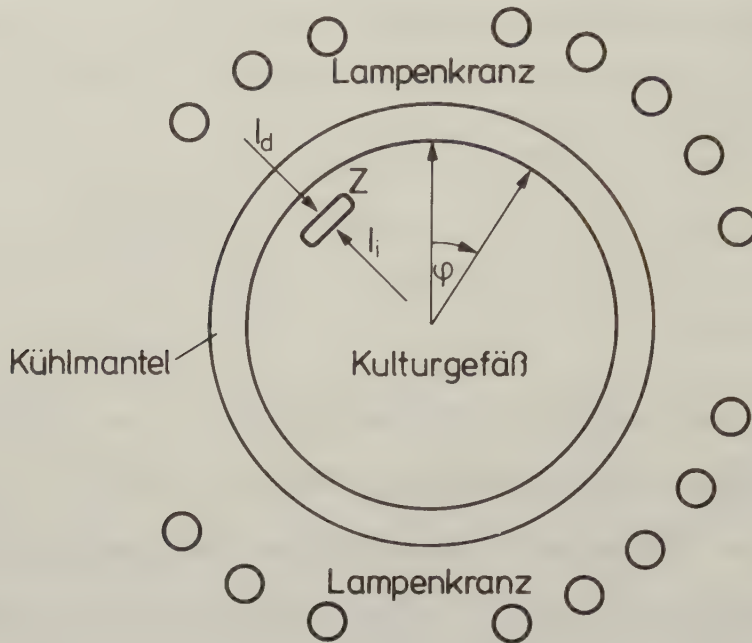


Abb. 9 Schematische Darstellung der Anordnung von Lampenkranz und Kulturgefäß, Ansicht von oben. Zur Veranschaulichung ist eine Algenzelle Z mit den zugehörigen direkten (I_d) und indirekten (I_i) Beleuchtungsintensitäten eingezeichnet. ϕ : Azimutwinkel.

Zur Bestimmung der Quantenmenge, die einer Algenzelle zur Verfügung steht, ist es genaugenommen notwendig, eine sogenannte 4π -Messung durchzuführen, um die gesamte räumlich heterogene Einstrahlung integriert zu erfassen. Zur Lösung dieses Problems gibt es verschiedene, z.T. sehr exakte apparative Verfahren (BOOTH, 1976). Da im Falle des verwendeten Kulturgefäßes die Beleuchtung im wesentlichen nur über den Lampenkranz erfolgt und die technischen Voraussetzungen für eine 4π -Messung nicht vorlagen, wird im folgenden versucht, für diesen Fall einer zylindersymmetrischen Einstrahlung unter Berücksichtigung des Einflusses dichter Zellsuspensionen eine Abschätzung der für jede Zelle im Kulturgefäß insgesamt zur Verfügung stehenden Quantenmenge durchzuführen. Auf die Bedeutung der Lichtmessung

innerhalb dichter Suspensionen haben jüngst GRIFFITHS et al. (1978) hingewiesen.

Die Beleuchtungsstärke wurde bei Beleuchtung durch 2, 4, 8, 12 und 16 Lampen in Schritten von $30^\circ \triangleq \frac{\pi}{6}$ als Funktion des Azimutwinkels ϕ gemessen, wobei die Meßzelle stets parallel und in festem Abstand a zum Zylindermantel ausgerichtet war, und gegen ϕ von 0 bis 2π aufgetragen. Dem Integral

$$I = \int_0^{2\pi} \phi d\phi \quad (18)$$

entspricht dann die Fläche unter der Kurve, welche ausgeschnitten und gewogen wird. Durch Vergleich mit dem Gewicht von Papieren bekannter Fläche wird der Wert des Integrals ermittelt, aus dem nach

$$\bar{I} = \frac{\int_0^{2\pi} \phi d\phi}{2\pi} \quad (18a)$$

die mittlere Beleuchtungsintensität auf den Zylindermantel bei gegebenem Abstand a errechnet wird. Diese Messungen wurden für Abstände von $a = 8, 30, 51, 75, 79, 101$ und 108 mm von der gegenüberliegenden Innenwand des Kulturzylinders bei gefülltem Kühlwassermantel durchgeführt. Durch Interpolation läßt sich ein Beleuchtungsprofil über den gesamten Zylinderdurchmesser ($a = 0$ bis $a = 150$ mm) ermitteln, welches für 16 Lampen als Kurve I in Abbildung 10 dargestellt ist.

Eine erste Abschätzung der Lichtmenge, die jeder Algenzelle zur Verfügung steht, wurde unter folgenden Annahmen gemacht:

- (1) Die Zelle ist statistisch - ohne bevorzugten Aufenthaltsort - im Raum verteilt und wird durch die Rührung ständig bewegt.
- (2) Die Lichtintensität ist im Mittel auf dem Zylindermantel räumlich homogen verteilt und entspricht dem Wert $\bar{I}$ für

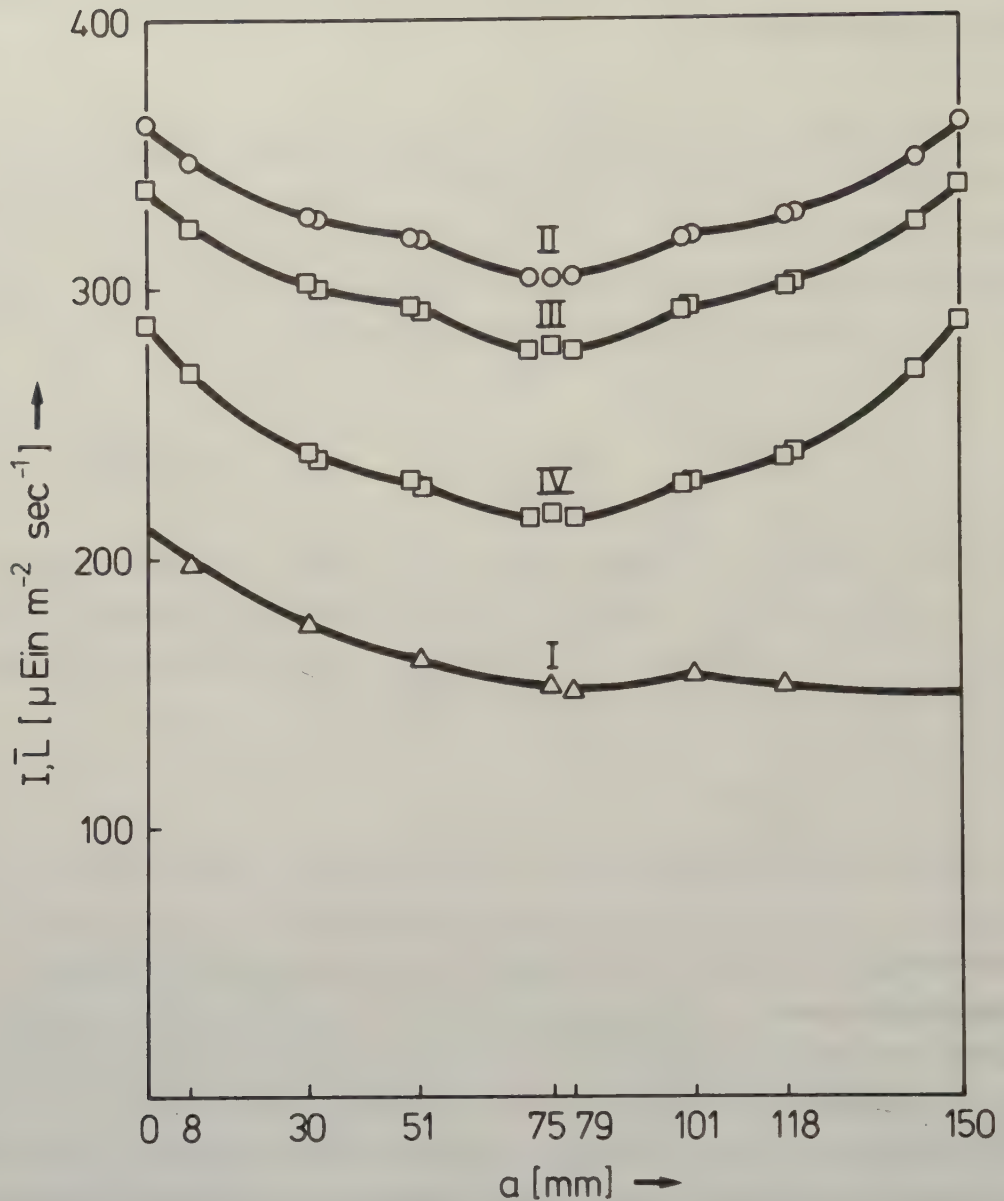


Abb. 10 Beleuchtungsintensitäten bei Beleuchtung mit 16 Leuchtstoffröhren als Funktion des Abstands von der Zylinderinnenwand.
 I: Beleuchtungsprofil, II bis IV: Einstrahlungssummen für $\epsilon^* = 0.0, 0.005$ und 0.02 .

den jeweils betrachteten Abstand.

- (3) Die Zellen von *T. rotula* absorbieren die Lichtenergie vor allem über die Valvarflächen. Der Anteil, der zusätzlich

über die Pleuralflächen absorbiert wird, wird durch Beschattung innerhalb einer Kette kompensiert.

Zunächst betrachte man eine Einzelzelle, deren Valvarebene parallel zum Zylindermantel ausgerichtet ist. Eine Schale, z.B. die Hypotheka, sei in allen Positionen im Kulturgefäß auf die nächstliegende Zylinderwand ausgerichtet (Ausschluß einer Eigenrotation um die Apikalachse). Dann wird die Zelle (vgl. Abb. 9) mit der Intensität

$$L = \bar{I}_d + \bar{I}_i$$

beleuchtet, dabei bedeuten d und i die Einstrahlung auf die Hypotheka (direkte Einstrahlung) bzw. Epitheka (indirekte Einstrahlung). Die Meßgrößen $\bar{I}_d$ und $\bar{I}_i$ sind für jeden Wert von a aus den gemessenen Profilen zu entnehmen.

Für eine Eigenrotation der Zelle um die Apikalachse verschieben sich die Verhältnisse durch den Einfluß der benachbarten Leuchtröhren. Für verschiedene Abstände a und Azimutwinkel ϕ wurde deshalb die Meßzelle in Schritten von $30^\circ \triangleq \frac{\pi}{6}$ um ihre Apikalachse gedreht und das Beleuchtungsprofil als Funktion des Rotationswinkels ω aufgenommen. Der Wert

$$\hat{L} = I_{\text{links}} + I_{\text{rechts}}$$

gibt die Einstrahlung auf die Valvarflächen für einen gegebenen Rotationswinkel ω an.

Der Quotient

$$K = \frac{\hat{L}}{L}$$

kann für verschiedene Meßpunkte und Rotationswinkel Werte von 0.885 bis 1.288 annehmen, gemittelt beträgt er jedoch ungefähr 1. Die Eigenrotation hat also im zeitlichen Mittel keinen Einfluß auf die Beleuchtungsintensität. Dieser Befund stimmt mit dem theoretisch zu erwartenden überein, da keine bevorzugte

Orientierung der Rotationsachse im Raum angenommen werden kann.

Abbildung 10 zeigt in Kurve II den Verlauf der Einstrahlungssumme

$$L = \bar{I}_d + \bar{I}_i$$

als Funktion des Abstands a für 16 Lampen. Diese Kurve wurde ebenfalls gravimetrisch integriert und als mittlere Lichtintensität $\bar{L}$ definiert

$$\bar{L} = \frac{\int_{a=0}^{a=150} L(a) da}{a} . \quad (19)$$

Dieser Wert ist eine Abschätzung dafür, wieviel Licht eine Zelle im räumlichen und zeitlichen Mittel bei einer gegebenen Lampenkombination 'zu sehen bekommt'. Die Werte für $\bar{L}$ bei den verwendeten Lampenkombinationen sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tabelle 4 Mittlere theoretische Lichtintensität bei verschiedenen Lampenkombinationen.

Anzahl der Lampen	$\bar{L}$ (Microeinstein $m^{-2} \text{ sec}^{-1}$)
2	40
4	81
8	170
12	245
16	322

Eine wesentliche Einschränkung dieser Zahlenwerte ist durch eine gegenseitige Beschattung der Algen in dichten Suspensionen

möglich. Eine quantitative Abschätzung dieses Umstands wurde unter Benutzung des LAMBERT-BEER'schen Gesetzes versucht. Es gilt:

$$E = \epsilon \cdot c \cdot d = - \lg T \quad (20)$$

$$E = \epsilon^* \cdot d \quad (20a)$$

Dabei stehen E für Extinktion und T für Transmission. Der Wert für ϵ^* ist von der Zellkonzentration abhängig. Die Absorption einer Algensuspension erwies sich über den ganzen Bereich von 300 nm bis 800 nm als gleichförmig, so daß die Wellenlänge in diesem Zusammenhang unbedeutend ist. Für $\epsilon^* = 0.005, 0.01, 0.02$ und 0.04 wurde mit der Formel

$$T = 10^{-\epsilon^* d} \quad (21)$$

für jeden Meßpunkt im Beleuchtungsprofil I jeder Lampenkombination unter Benutzung des entsprechenden Abstandswertes a als Weglänge d in Formel (21) der Einfluß der Beschattung als die dem jeweiligen errechneten Transmissionswert entsprechende Abschwächung der im leeren Topf an dieser Stelle herrschenden Beleuchtungsintensität ermittelt. Es ergeben sich somit neue Einstrahlungssummen und neue Werte für die mittlere Lichtintensität $\bar{L}$. Abbildung 10 zeigt zwei Kurven für L bei 16 Lampen und angenommener Beschattung mit $\epsilon^* = 0.005$ (Kurve III) bzw. $\epsilon^* = 0.02$ (Kurve IV).

Die prozentuale Verminderung bzw. Resthelligkeit von $\bar{L}$, bezogen auf $\bar{L}$ im leeren Kulturgefäß, ist für entsprechende ϵ^* -Werte bei allen Lampenkombinationen in etwa gleich. Die Mittelwerte sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Aus Vorversuchen wurde für den Zusammenhang von Extinktion E bei 4 cm Schichtdicke und Zellzahl Z (Zellen pro ml) einer Algensuspension folgende Beziehung gefunden (11 Wertepaare, $r = 0.993$):

$$E = 3.7 \cdot 10^{-6} \cdot Z^{1.15} \quad (22)$$

Tabelle 5 Resthelligkeit der mittleren Lichtintensität, bezogen auf das leere Kulturgefäß bei verschiedenen Werten von ϵ^* .

ϵ^*	Resthelligkeit in %
0	100
0.005	93.8 $\pm$ 1.6
0.01	86.9 $\pm$ 1.5
0.02	74.2 $\pm$ 0.9
0.04	57.1 $\pm$ 0.7

Unter Berücksichtigung der in Kapitel 3.1.2 angegebenen Daten für den Chlorophyll a - Gehalt pro Zelle wurde ein mittlerer Wert von 30 pg Chlorophyll a pro Zelle eingesetzt, um aus der linear gemittelten Chlorophyll-Konzentration der betreffenden Lichtphase und Formel (22) die Zellzahl und damit die Extinktion, welche auf eine Schichtdicke von 1 cm reduziert dem Wert ϵ^* entspricht, zu erhalten. Die Resthelligkeiten sind im Bereich von $\epsilon^* = 0$ bis $\epsilon^* = 0.02$, was einer Zellzahl von ca. 6000 Zellen pro ml entspricht, linear mit den ϵ^* -Werten korreliert. Die Regressionsgerade (4 Wertepaare, $r = 0.9998$) lautet:

$$\text{Resthelligkeit} = 100.07 - 1294.06 \cdot \epsilon^*.$$

Dadurch kann man aus den für jede Lichtphase ermittelten ϵ^* -Werten die tatsächliche mittlere Lichtintensität abschätzen. Diese Werte sind in den Tabellen in Kapitel 3.4 angegeben.

Die vorstehend ausgeführte Art der Lichtintensitätsbestimmung ermöglicht dennoch nur eine ungefähre Aussage über die Beleuchtungsverhältnisse. Die Lichtmessung als solche ist auf ± 1 Microeinstein $\text{m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ genau. Die Aufnahme der Profile und die zugehörige Integration bringen eine gewisse Ungenauigkeit mit.

Zum letzten kann die Gesamtgenauigkeit auch noch durch folgende Faktoren beeinflußt werden:

- (1) Veränderte Katakaustik im gefüllten Kulturgefäß,
- (2) Einfluß der Kettenlänge und Streulichteffekte,
- (3) Alterung der Leuchtstoffröhren,
- (4) Beschattung durch Armaturen im Kulturgefäß,
- (5) Zusätzliche Beleuchtung vom Boden bzw. vom Deckel durch Reflexion bzw. Raumbelichtung,
- (6) Veränderungen in der Transmission des Kühlwassers bzw. des Schutzfilms zur Verhinderung des Beschlagens.

Zusätzlich ist nicht auszuschließen, daß die anfangs gemachten Annahmen in gewissen Grenzfällen von der Realität abweichen können.

Die relative Gesamtgenauigkeit dürfte im Bereich von ± 5 Micro-einstein $\text{m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ liegen. Ob die gemessenen Intensitäten auch absolut richtig sind, ist nur unter der Voraussetzung eines exakt geeichten Quanten-Sensors zu bejahen.

3.2.3 Konzentration an anorganischem Kohlenstoff und pH-Werte im Medium

Das Meßverfahren zur Bestimmung der anorganischen C-Komponenten wurde mit 0.5 M NaHCO_3 - Lösung geprüft. Die Ausbeute erreichte aber nie 100 %, was möglicherweise eine nicht erfaßte CO_2 -Retention andeuten kann. Die Auswertung erfolgte nach KLEINZELLER (1965). Sechszwanzig Eichproben mit 0.01 bis 0.1 ml Eichlösung ergaben im Mittel eine Ausbeute von 88.8 % ± 1.8 %. Dieser Wert wurde zur Korrektur der Messungen eingesetzt. Eine Verminderung des pH-Wertes in dem Reaktionsgefäß unter den Wert 3 führte zu keiner vermehrten Gas-Freisetzung.

Nach SKIRROW (1975) betragen die Konzentrationen an Karbonat bzw. Bikarbonat $2 \cdot 10^{-4} \text{ Mol l}^{-1}$ bzw. $20 \cdot 10^{-4} \text{ Mol l}^{-1}$ für Meer-

wasser von pH 8.3 bei 10 °C und 35 ‰ Salinität. Die Summe beläuft sich mithin auf 2.2 mMol l⁻¹. Im Kulturmedium lag die Konzentration im Bereich von 1.71 bis 2.19 mMol l⁻¹. Eine Spülung mit reinem Helium hat keinen Einfluß auf den Gehalt, wohingegen eine Spülung mit 1 % CO₂ in Helium die Werte auf 2.45 bis 3.85 mMol l⁻¹ ansteigen läßt. Durch Nachfüllung mit He-CO₂-begastem Medium können also leichte Konzentrations-Schwankungen im Kulturgefäß auftreten. Sie liegen aber in dem Bereich, der ohnehin durch den Verbrauch an anorganischem Kohlenstoff zur Photosynthese überstrichen wird. Eine deutliche Reduktion der Kohlenstoff-Fixierungsrate um 50 % findet nach Untersuchungen von CAPERON und SMITH (1978) an Reinkulturen mariner Diatomeen und Planktonproben erst bei einer HCO₃⁻-Konzentration von ≤ 0.42 mMol l⁻¹ statt.

Die pH-Werte im Kulturmedium wurden nur bei den Versuchen ohne Gasphase mit Indikator-Stäbchen in Abstufungen von 0.2 bis 0.3 pH-Einheiten abgeschätzt. Der pH-Wert lag meist zwischen 7.4 und 8.5. Während der Lichtphase traten oft pH-Steigerungen um 0.3 bis 0.5 Einheiten auf, die vereinzelt Maximalwerte von 0.9 Einheiten erreichten. Zunahmen des pH-Wertes bei der Photosynthese in Batch-Kulturen mariner Phytoplankter oder Benthos-Pflanzen sind aus anderen Arbeiten bekannt (z.B. MORRIS und GLOVER, 1974; PARK et al., 1969; BREWER und GOLDMAN, 1976). Nach SMITH und KEY (1975) verändert ein Eintrag bzw. ein Entzug von anorganischem Kohlenstoff die Gesamt-Alkalinität nicht. BREWER und GOLDMAN (1976) konnten zeigen, daß die pH-Veränderung durch den Stickstoff-Stoffwechsel verursacht wird. Beim Verbrauch von NO₃⁻ als Stickstoffquelle steigt, bei der Aufnahme von NH₄⁺ fällt der pH-Wert im Medium. CaCO₃-Ausfällungen und die Exkretion organischer Säuren können aber möglicherweise ebenfalls eine Rolle spielen.

3.3 Ergebnisse der massenspektrometrischen Messungen

3.3.1 Messung von Standard-Sauerstoff

Alle in den Kapiteln 3.3.1 und 3.3.2 aufgeführten Isotopenverschiebungen ($\delta[\text{‰}]$ -Werte) sind auf den massenspektrometrischen Standard bezogen. Es wurden insgesamt 24 Proben Standard-Sauerstoff direkt umgewandelt. Dabei beträgt der Mittelwert der Isotopenverschiebung $-2.89 \text{ ‰} \pm 0.14 \text{ ‰}$. Die Konfidenzgrenzen des Mittelwertes für 95 %ige Wahrscheinlichkeit betragen $\pm 0.059 \text{ ‰}$.

Die Messung von vor der Umwandlung adsorbiertem Sauerstoff zeigte an der Apparatur mit Gasphase relativ große Schwankungen. Der Mittelwert aus 13 Messungen beträgt $-3.76 \text{ ‰} \pm 0.9 \text{ ‰}$. Messungen an der Apparatur ohne Gasphase ergaben aus 6 Werten ein Mittel von $-2.89 \text{ ‰} \pm 0.34 \text{ ‰}$. Beide Werte sind auf dem 95 % - Niveau signifikant voneinander verschieden. Verglichen mit den Resultaten von direkt umgewandeltem Sauerstoff zeigt sich, daß die Isotopenzusammensetzung durch die Adsorption im Vakuum nicht wesentlich verändert wird, wohingegen bei Normaldruck eine Isotopenverschiebung auftritt. Direkte Vergleiche einzelner Messungen ergeben im ersten Fall geringe positive und negative Differenzen.

Der Druckabfall während der Umwandlung (vgl. Abb. 5) war sowohl bei direkt umgewandeltem als auch bei adsorbiertem Standard-Sauerstoff stärker als bei extrahierten Proben. Der Restdruck lag im Bereich 0.01 bis 0.03 Torr. Demnach wird die Gasprobe zu 99.6 bis 99.9 % umgewandelt.

3.3.2 Messung von extrahiertem Standard-Sauerstoff

Die Resultate der Messungen extrahierter Sauerstoff-Proben aus vier verschiedenen Versuchen sind in Abbildung 11 dargestellt. Zusätzlich ist noch der Mittelwert von direkt umgewandeltem Sauerstoff mit den zugehörigen Konfidenzgrenzen für 95 % eingezeichnet. Die Ausgleichskurve durch die Meßpunkte wurde optisch eingepaßt. Eine Berechnung einer Ausgleichsfunktion ist

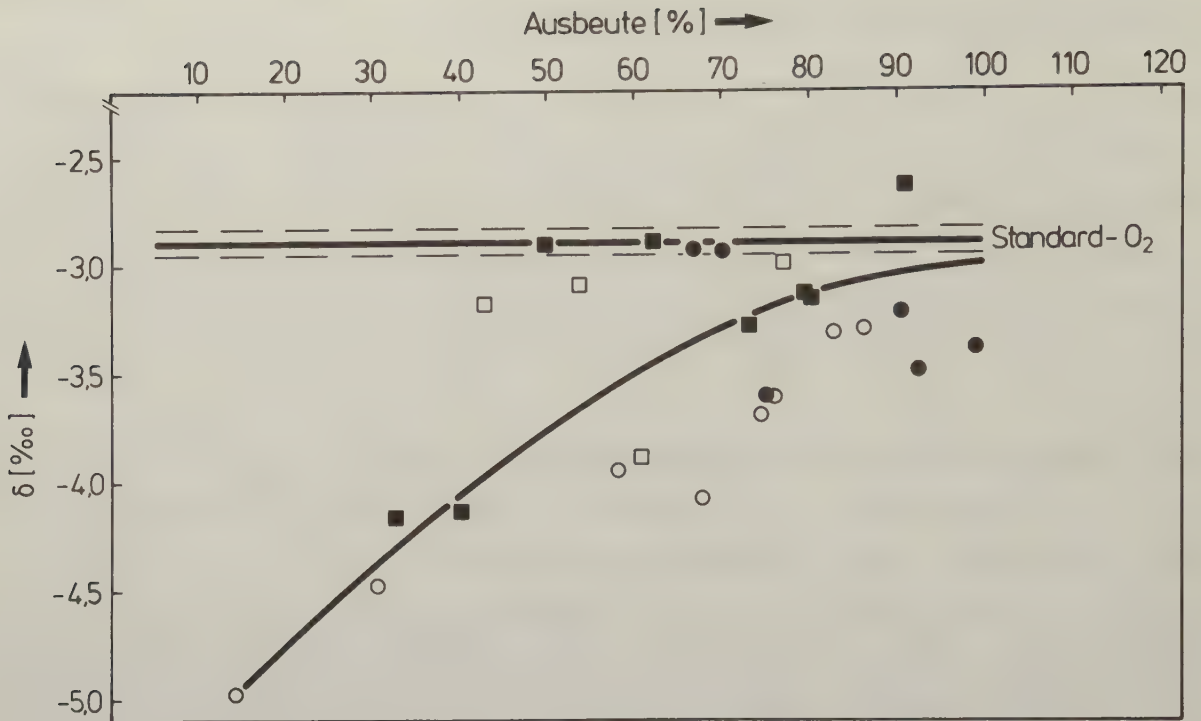


Abb. 11 Fraktionierung als Funktion der Ausbeute bei der Extraktion und Umwandlung von Standard-Sauerstoff. Meßwerte aus 4 Versuchen. Zusätzlich ist der δ [‰]-Wert für direkt umgewandelten Standard-Sauerstoff mit den 95 %-Konfidenzgrenzen eingezeichnet.

wegen der großen Streuung der Meßwerte nicht sinnvoll. Trotzdem zeigt sich eine deutliche Abreicherung, die bei geringen Ausbeuten bis zu 2 ‰ betragen kann. Zur Auswertung der Versuche wurde für jede extrahierte Probe gemäß ihrer Ausbeute (siehe Kap. 3.4.2.1) eine Korrektur entsprechend der Ausgleichskurve in Abbildung 11 durchgeführt. Eine Berechnung der im Probenwasser zurückgebliebenen Sauerstoff-Konzentration ergibt Werte, die unabhängig von der anfänglichen Sauerstoff-Konzentration stets im Bereich von 0.75 bis 3.56 ml O₂ l⁻¹ liegen.

Der Mittelwert aus 101 Messungen beträgt $2.23 \pm 0.6 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$. Dieser Befund deutet darauf hin, daß es nicht möglich ist, eine vollkommene Extraktion zu erreichen.

Die Restdrucke bei der Umwandlung (vgl. Abb. 5) liegen für Proben mit Standard-Sauerstoff im gleichen Bereich wie bei Proben aus den Versuchen. Sie betragen etwa 0.4 bis 0.9 Torr. Daraus folgt, daß die Gasprobe zu 87 % bis zu 95 % umgewandelt wird. Dieser Restdruck ist wohl vor allem durch Stickstoff bedingt, der bei der Helium-Spülung vor Versuchsbeginn nicht quantitativ entfernt wurde. Die späteren Proben eines Versuchs zeigten meist geringere Restdrucke, was darauf zurückzuführen ist, daß das Medium zur Nachfüllung aus dem Reservoir durch permanente Helium-Spülung sicherlich auch fast stickstofffrei ist. Eine gründliche Helium-Spülung zu Beginn ist also auch für eine effektivere Umwandlung günstig, da große Stickstoff-Beimengungen längere Umwandlungszeiten erfordern und zusätzlich die Druckmessung ungenauer machen. Demgegenüber ist der Restdruck direkter Umwandlungen von Standard-Sauerstoff durch die Aufheizung der Umwandlungsapparatur und die ungenaue Anzeige der Meßröhre bei geringen Drucken bedingt.

Ein Vergleich der $\delta[\text{‰}]\text{-}$ Werte für direkt umgewandelten sowie nach Adsorption bzw. nach Extraktion und Adsorption umgewandelten Sauerstoff zeigt, daß die Adsorption an Molekularsieb allein keinen nennenswerten Einfluß auf das Isotopenverhältnis hat. Demgegenüber fanden FÖRSTEL und ZIELKE (1978) eine Anreicherung bei der Extraktion und Adsorption gegenüber direkt umgewandelten Luftproben. Diese Isotopenverschiebung wird vermutlich dadurch verursacht, daß bei Proben dieser Art Adsorption und Umwandlung in Gegenwart großer Stickstoffmengen stattfinden. KROOPNICK (1971) fand dagegen ebenfalls keine Isotopenverschiebung durch Adsorption und Desorption. Eine Anreicherung des Sauerstoffs an ^{18}O durch Lösung im Meerwasser (KROOPNICK und CRAIG, 1972) konnte in Übereinstimmung mit FÖRSTEL und ZIELKE (1978) nicht gefunden werden.

Die extrahierten Proben zeigen eine nicht so gute Reproduzierbarkeit wie direkt umgewandelte oder nach Adsorption umgewandelte Sauerstoff-Proben. Die relative Genauigkeit liegt im Bereich von ± 0.5 ‰. Die absolute Genauigkeit der Umwandlungsanlage kann z.B. durch die Ermittlung der Isotopenverschiebung beim Umwandeln von Luftsauerstoff abgeschätzt werden. Nach SCHLESER (1977) ist der Luftsauerstoff gegenüber dem massenspektrometrischen Standard um -10.6 ‰ abgereichert. Die Isotopenverschiebung von mit SMOW equilibriertem Kohlendioxid gegen diesen Standard beträgt vor der Equilibrierung -0.5 ‰ und nachher -5.94 ‰. Daraus errechnete der Autor nach seinen Formeln eine Anreicherung von Luftsauerstoff gegenüber SMOW von 23.65 ‰. Da die Umwandlungen des Luftsauerstoffs auf einer im Prinzip identischen Anlage durchgeführt wurden und auch neuere Messungen des Autors auf beiden Anlagen für Sauerstoff, der gaschromatographisch aus Luftproben abgetrennt wurde, identische Werte zeigen, ist anzunehmen, daß die Umwandlung von Sauerstoffproben, in denen die Isotopenverschiebung im Bereich von ± 30 ‰ liegt, im wesentlichen korrekt funktioniert. Eine Fraktionierung durch unvollständige Umwandlung (KROOPNICK, 1971) kann mithin ausgeschlossen werden.

3.3.3 Das $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnis in der anorganischen Kohlenstoff-Fraktion

Die Werte für den $\delta^{18}\text{O}$ -Wert im CO_2 aus angesäuertem Meerwasser sind nur als grobe Anhaltspunkte zu betrachten, da zum einen die Ausbeute meist nur etwa 50 % betrug, ohne daß eine Korrektur erfolgte, und zum anderen der Beitrag des ^{13}C -Isotops zur Masse 45 nicht gesondert erfaßt wurde. Aus 17 Messungen ergibt sich als Mittelwert eine Anreicherung von 7.45 ‰ ± 1.1 ‰ gegen den Massenspektrometer-Standard bzw. 43.48 ‰ ± 1.1 ‰ gegenüber SMOW. Trotz der oben erwähnten Einschränkungen entspricht dieser Wert recht gut dem theoretisch nach KROOPNICK (1974) zu erwartenden Wert von 7.89 ‰ für bei 15°C mit Meerwasser äquilibriertes Luft- CO_2 .

3.3.4 $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ - Verhältnisse im Kulturmedium

Um unkontrollierte Schwankungen bei der Equilibrierung erfassen und berücksichtigen zu können, wurde von einem gegen SMOW kalibrierten Wasservolumen - dem Laborstandard - bei jeder Meßserie eine Kontrollprobe mitbearbeitet. Der Sollwert dieses Laborstandards sowohl gegen den internen Massenspektrometer-Standard als auch gegen SMOW ist bekannt; somit kann jede Einzelmessung entsprechend der Abweichung des Laborstandards in der betreffenden Meßserie korrigiert werden. Bei einer Vergleichsmessung von 12 Seewasserproben und Laborstandards ergaben die δ_{eq} -Werte für Seewasser $7.244 \text{ ‰} \pm 0.4 \text{ ‰}$ bzw. $-0.586 \text{ ‰} \pm 0.4 \text{ ‰}$ für den Laborstandard, jeweils bezogen auf den Massenspektrometer-Standard. Die paarweisen Differenzen - Seewasser minus Laborstandard - dagegen ergeben $7.83 \text{ ‰} \pm 0.102 \text{ ‰}$. Der Ausgleich erhöht also die Genauigkeit um den Faktor 3 bis 4.

Da zur Kultivation natürliches Meerwasser eingesetzt wurde, ist die Isotopenzusammensetzung fast mit dem Wert für SMOW identisch. Die maximale Abweichung betrug -1.37 ‰ . Die Zugabe von H_3PO_4 resultierte sowohl in leichten Anreicherungen bis maximal 0.77 ‰ als auch in leichten Abreicherungen bis maximal -1.25 ‰ . Im Mittel der Differenzen sind die angesäuerten Proben um $0.13 \text{ ‰} \pm 0.68 \text{ ‰}$ gegenüber nicht-angesäuerten angereichert. Alle angesäuerten Proben ergeben einen Mittelwert von $-0.23 \text{ ‰} \pm 0.54 \text{ ‰}$, alle nicht-angesäuerten hingegen $-0.20 \text{ ‰} \pm 0.66 \text{ ‰}$. Die Variationsbreite reicht im ersten Fall von -1.25 ‰ bis 0.77 ‰ , im zweiten Fall von -1.37 ‰ bis 1.008 ‰ . Die Ansäuerung hat also in Übereinstimmung mit FRESKO (1977) keinen wesentlichen Einfluß auf das Resultat. Innerhalb eines Versuches zeigten die Proben Veränderungen von maximal 0.6 ‰ sowohl steigender als auch fallender Tendenz. Nur in einem Falle mit Zugabe von an ^{18}O angereichertem Karbonat (vgl. Kap. 3.4.2.8) stieg der $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ -Wert um 1 ‰ an.

Zur Auswertung (vgl. Kap. 3.4) wurde aus den δ_{eq} -Werten entsprechend Kapitel 2.2.4 der $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ -Wert bezüglich SMOW und nach

Formel (15) (Kap. 2.2.8) der zugehörige Molenbruch errechnet. Dann wurde aus allen für den betreffenden Versuch vorliegenden Daten unter Ausschluß stark abweichender Werte und bevorzugter Bezugnahme auf Werte aus angesäuerten Proben ein Mittelwert für den ganzen Versuch errechnet und als mittlerer ^{18}O -Molenbruch im Wasser verwendet.

Sämtliche δ -Werte aus den im Kapitel 3.3 durchgeführten Messungen sind zur besseren Übersicht in der Tabelle 6 noch einmal aufgeführt.

Tabelle 6 Zusammenstellung der bisherigen $\delta[\text{‰}]$ -Werte, gemessen gegen den massenspektrometrischen Standard. Angegeben sind der Mittelwert $\pm$ Standardabweichung und die Anzahl der Messungen (n).

Proben	$\bar{x} \pm s$ ($\delta \text{ ‰}$)	n
Standard-Sauerstoff, direkt umgewandelt	-2.89 ± 0.14	24
Standard-Sauerstoff, adsorbiert, aus Versuchen mit Gasphase	-3.76 ± 0.90	13
Standard-Sauerstoff, adsorbiert, aus Versuchen ohne Gasphase	-2.89 ± 0.34	6
Anorganischer Kohlenstoff, ΣCO_2	7.45 ± 1.10	17
Laborstandard, Eichserie	-0.59 ± 0.36	12
Seewasser, Eichserie	7.25 ± 0.40	12
Seewasser minus Laborstandard	7.83 ± 0.10	12
Kulturmedium, nicht angesäuert	-0.20 ± 0.66	27
Kulturmedium, angesäuert	-0.23 ± 0.54	22
'Angesäuert' minus 'Nicht angesäuert'	0.13 ± 0.68	10

3.4 Auswertungen

3.4.1 Auswertung der Versuche mit Gasphase

Dem Vorteil der Versuche mit Gasphase, die Kultur fast ganz unbehelligt zu lassen, steht bezüglich Isotopenanalysen der Nachteil gegenüber, daß der langsame Phasenübergang eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Gas- und Wasserphase unterbindet. Die Isotopenzusammensetzung des Sauerstoffs in der Gasphase gibt also immer nur ein verspätetes und beim Wechsel von Licht- und Dunkelphasen ein auf unbekannte Weise vermischtes Abbild der Verhältnisse im Wasserkörper wieder. Die mit diesen Versuchen erzielten Resultate können also nur eine Tendenz anzeigen. Sie erlauben keine direkten Schlüsse auf die Fraktionierung bei Photosynthese oder Respiration.

Der typische Kulturverlauf eines Versuches dieses Art ist in Abbildung 12 dargestellt. Chlorophyll a - Konzentration und Zellzahl pro ml sind direkt zugängliche Meßgrößen. Die Sauerstoff-Kurve zeigt den gesamten produzierten Sauerstoff in kumulierter Form. Die aktuell vorliegende Sauerstoffmenge wird für Intervalle von 2 bis 3 Stunden nach folgender Formel berechnet:

$$M = c_g \cdot V_g + c_w \cdot V_w. \quad (23)$$

Es bedeuten: M = Menge an Sauerstoff (ml), c = Sauerstoff-Konzentration (ml O₂ l⁻¹, berechnet nach Formel (17)), V = Volumen (l), g = Gasphase und w = Wasserphase.

Der Anteil an Sauerstoff, der an den mit einem Pfeil angezeigten Stellen zur Isotopenanalyse der Gasphase entnommen wurde, ist in der dargestellten Kurve nicht berücksichtigt. Der Verbrauch von Sauerstoff durch Respiration ist in der ersten Dunkelphase deutlich ausgeprägt, während in der zweiten möglicherweise durch ungenaue Messung oder durch diffuse Beleuchtung (Raumlicht) der Verlauf etwas untypisch wird. Ein Einstrom von Luftsauerstoff ist unwahrscheinlich, da bei Versuchen ohne Al-

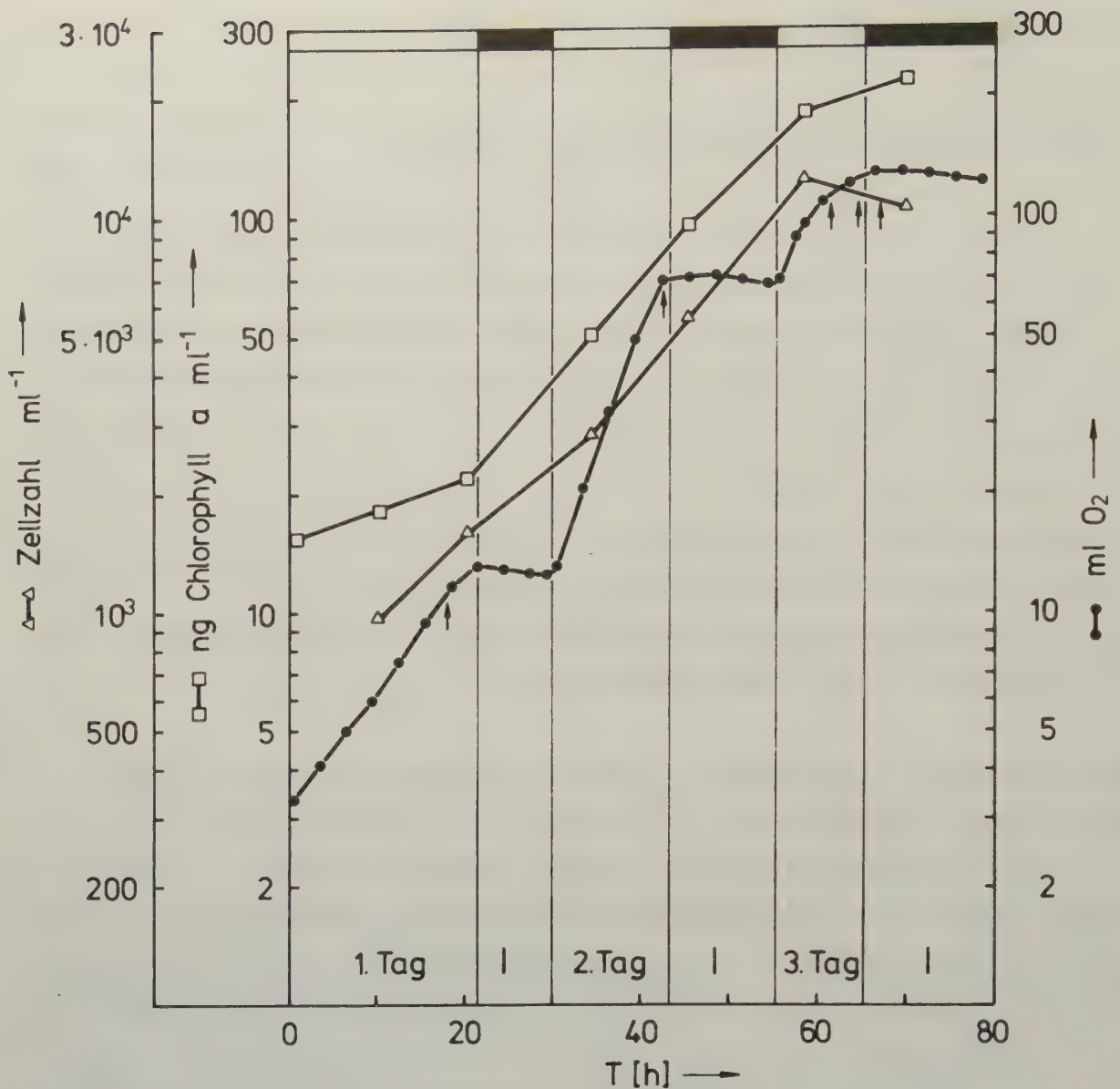


Abb. 12 Typischer Verlauf eines Versuchs mit Gasphase, Versuch Nr. 10, $245 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{sec}^{-1}$, 15°C . Die Pfeile zeigen die Entnahmen von Proben aus der Gasphase an.

genzugabe der Sauerstoff-Gehalt im Kulturgefäß konstant Null beträgt.

Ein gewisser Anteil von Luftsauerstoff wurde in der Wasserphase zur Vermeidung anaerober Verhältnisse belassen bzw. durch die Inoculation eingetragen. Dieser Anteil wird im Wasser durch

die Photosynthese verdünnt und verzögert in die Gasphase abgegeben. Der prozentuale Anteil an Luftsauerstoff in beiden Phasen zu einem beliebigen Zeitpunkt t wird berechnet nach:

$$p_{t+1,w} = \frac{p_{t,w} \cdot M_{t,w}}{M_{t+1,w} + M_{t,t+1}} \quad (24)$$

$$p_{t+1,g} = \frac{p_{t,g} \cdot M_{t,g} + p_{t+1,w} \cdot M_{t,t+1}}{M_{t+1,g}} \quad (24a)$$

(p = Gehalt an Luftsauerstoff in %, g = Gasphase, w = Wasserphase, M = Sauerstoffmenge, $M_{t,t+1}$ = Sauerstoffmenge, die zwischen dem Zeitpunkt t und dem Zeitpunkt $t+1$ von der Wasserphase in die Gasphase übergeht). Durch dieses Verfahren werden die an sich kontinuierlichen Vorgänge der Verdünnung und des Phasenübergangs des Luftsauerstoffs in diskreten Einzelschritten hinreichend approximiert.

Der gemessene $\delta[\text{‰}]$ -Wert für Proben aus der Gasphase wurde für den Kapillarabgleich und den ^{13}C -Beitrag (vgl. Kap. 2.2.7.2) korrigiert. Der Kapillarabgleich wird ermittelt, indem Standardgas als Standard und Probe gemessen wird, um kleine Unterschiede in den Kapillaren zu erfassen. Er liegt meist im Bereich von 10^{-2} ‰. Zusätzlich wurde am Anfang des Versuchs pro Meßserie eine Probe mit Standard-Sauerstoff in identischer Weise wie die anderen Proben hergestellt. Der Betrag, um den diese Probe vom Sollwert für Standard-Sauerstoff (vgl. Kap. 3.3.1) abweicht, wurde als Korrekturwert benutzt. Alle $\delta[\text{‰}]$ -Werte in Kapitel 3.4 wurden auf SMOW bezogen und in Molenbrüche (X) umgewandelt.

Das Isotopenverhältnis in den Gasproben setzt sich zusammen entsprechend der Formel

$$X_p M_p = X_{ps} M_{ps} + X_l M_l \quad (25)$$

Es bedeuten: X = Molenbruch, M = Masse an Sauerstoff, p = Probe, ps = photosynthetisch freigesetzt, l = Luft.

Daraus folgt

$$X_{ps} = \frac{X_p M_p - X_l M_l}{M_{ps}} \quad (26)$$

bzw.

$$\alpha = \frac{X_p M_p - X_l M_l}{M_{ps} \cdot X_w} = \frac{X_{ps}}{X_w} \quad (27)$$

(X_w = Molenbruch im Kulturmedium). Der Wert X_w stellt für jedes Experiment einen Mittelwert dar. Der Anteil an Luftsauerstoff ($X_l M_l$) wird für späte Proben eines jeden Versuchs vernachlässigbar gering. Der Wert für X_l wurde aus SCHLESER (1977) und BAERTSCHI (1976) zu $2.04776 \cdot 10^{-3}$ berechnet. Die Resultate von 6 Versuchen mit Gasphase sind nachfolgend in der Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7 Sauerstoffmenge in der Probe (M_p) bzw. Anteil des Photosynthese-Sauerstoffs (M_{ps}), ^{18}O -Molenbruch in der Probe (X_p), im Photosynthese-Sauerstoff (X_{ps}) und im Medium (X_w) sowie der Fraktionierungsfaktor aus sechs Versuchen mit Gasphase

M_p [ml]	M_{ps} [ml]	$X_p \cdot 10^3$	$X_{ps} \cdot 10^3$	α
Versuch 4			$X_w = 2.00109 \cdot 10^{-3}$	
12.82	11.29	2.01955	2.01572	1.00731
9.73	9.60	2.02000	2.01963	1.00926
13.25	13.25	2.01992	2.01992	1.00941
Versuch 5			$X_w = 2.00069 \cdot 10^{-3}$	
14.68	14.59	2.01486	2.01466	1.00698
14.09	14.09	2.01766	2.01766	1.00848
36.98	36.46	2.01482	2.01435	1.00683

Tabelle 7 - Fortsetzung -

M_p [ml]	M_{ps} [ml]	$x_p \cdot 10^3$	$x_{ps} \cdot 10^3$	α
Versuch 6			$x_w = 1.99859 \cdot 10^{-3}$	
5.62	5.00	2.02438	2.02557	1.01350
5.12	4.78	2.02981	2.02854	1.01498
Versuch 9			$x_w = 2.00110 \cdot 10^{-3}$	
8.96	6.33	2.02005	2.03057	1.01473
14.46	14.00	2.01422	2.01487	1.00688
13.87	13.78	2.01586	2.01600	1.00745
15.49	15.49	2.03269	2.03269	1.01579
12.28	12.28	2.01919	2.01919	1.00904
Versuch 10			$x_w = 1.99945 \cdot 10^{-3}$	
4.45	2.14	2.03284	2.01680	1.00868
14.46	13.74	2.01679	2.01516	1.00786
14.96	14.96	2.01853	2.01853	1.00954
8.84	8.84	2.02155	2.02155	1.01085
15.30	15.30	2.03365	2.03365	1.01710*
Versuch 11			$x_w = 2.00088 \cdot 10^{-3}$	
12.78	10.15	2.02268	2.01617	1.00764
16.31	15.53	2.01853	2.01706	1.00809
14.19	14.19	2.02032	2.02032	1.00972
6.04	6.04	2.02642	2.02642	1.01277
4.17	4.17	2.04117	2.04117	1.02014*

Die Daten in Tabelle 7 sind für jeden Versuch chronologisch geordnet. Es läßt sich in allen Versuchen eine mehr oder weniger ausgeprägte Zunahme von α mit dem Versuchsalter feststellen. Dieser Tatbestand wird wahrscheinlich durch den zunehmenden Gehalt der Gasphase an Restsauerstoff, der durch die Respiration

angereichert wurde (vgl. Kap. 3.4.2) hervorgerufen. Die beiden mit * bezeichneten Werte in den Versuchen 10 und 11 wurden gewonnen, indem die Gasphase nach Probennahme rasch sauerstofffrei gespült und dann die Beleuchtung abgeschaltet wurde. Der noch im Wasser vorhandene Sauerstoff entwich z.T. in die Gasphase, während ein Teil in der Wasserphase veratmet wurde. Diese Werte geben also in etwa einen Hinweis auf die Fraktionierung durch Respiration während der Dunkelphase.

Alle aufgeführten Versuche wurden bei 15 °C und Beleuchtungen von $245 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ bzw. $322 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ in Versuch 11 durchgeführt, wobei aber während der Versuche Einstrahlungsverminderungen infolge hoher Zellkonzentrationen auftraten.

Aus der Zunahme der Sauerstoffmenge und der mittleren Chlorophyll-Konzentration in einem kurzen, möglichst typischen Intervall jeder Licht- oder Dunkelphase wurden spezifische Netto-produktions- und Respirationsraten ermittelt und in 'Micromol Sauerstoff pro Stunde und Milligramm Chlorophyll a' umgerechnet. Die mittlere Chlorophyll-Konzentration gestattet über die in Kapitel 3.2.2 dargestellte Beziehung auch eine Bestimmung der tatsächlich vorliegenden mittleren Beleuchtungsintensität. In den Versuchen 9 bis 11 wurden Zellzählungen parallel zur Chlorophyllbestimmung durchgeführt. Somit lagen für jeden Versuch Umrechnungsfaktoren vor, um aus dem Chlorophyll-Gehalt auf die Zelldichte zu schließen. Für die Versuche 4 bis 6 wurde ein Mittelwert von 20 pg Chlorophyll a pro Zelle zur Rechnung benutzt. Für ϵ^* -Werte >0.02 wurde die Resthelligkeit graphisch interpoliert.

Die Umsatzraten und mittleren Lichtintensitäten sind in Tabelle 8 chronologisch aufgeführt. Geringe positive Umsatzraten während der Dunkelphasen in Versuch 5 sind auf Störeffekte durch Raumlicht zurückzuführen, da in diesem Versuch die Dunkelphasen tagsüber eingestellt waren.

Tabelle 8 Mittlere Lichtintensität ($\bar{L}$, $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$), Chlo-
rophyll a -Konzentration (cChl), Verdoppelungszeit
(z, gemittelt: $\bar{z}$), spezifische Gasumsatzrate bei
Photosynthese (R_{ps}) und Respiration (R_r , $\mu\text{Mol O}_2$
 $\text{h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$) und prozentualer Anteil der Dunkel-
atmungsrate an der Photosyntheserate (R_r/R_{ps}) aus
sechs Versuchen mit Gasphase.

$\bar{L}$	cChl (ng ml ⁻¹)	z (h)	R _{ps}	R _r	$\frac{R_r}{R_{ps}}$
Versuch 4			$\bar{z} = 0.37 \text{ h}$		
237	19.9	31.9	412.7	-	30.6
0	23.4	83.1	-	-126.2	
233	28.0	24.3	421.8	-	26.9
0	36.9	55.2	-	-113.3	
Versuch 5			$\bar{z} = 26.7 \text{ h}$		
235	23.4	28.7	330.5	-	22.6
0	21.4	63.6	-	-74.8	
234	25.5	53.5	422.3	-	-
0	30.8	53.5	-	48.1	
229	35.4	20.4	398.4	-	-
0	41.5	12.9	-	5.2	
216	60.0	39.8	450.7	-	-
0	94.5	48.2	-	53.4	
186	166.0	71.8	546.2	-	3.4
0	195.0	-	-	-18.5	
Versuch 6			$\bar{z} = -$		
241	11.5	-	394.2	-	6.2
0	12.5	-	-	-24.4	
240	12.7	-	260.1	-	14.5
0	12.7	-	-	-37.6	

Tabelle 8 - Fortsetzung -

$\bar{L}$	cChl (ng ml ⁻¹)	z (h)	R _{ps}	R _r	$\frac{R_r}{R_{ps}}$
Versuch 9			$\bar{z} = 17.4 \text{ h}$		
233	33.5	14.5	327.8	-	12.3
0	69.0	11.7	-	-40.3	
189	127.0	27.3	565.9	-	8.3
0	187.0	20.1	-	-47.1	
Versuch 10			$\bar{z} = 12.3 \text{ h}$		
236	19.5	41.9	363.3	-	12.0
0	30.9	11.2	-	-43.5	
208	63.5	12.3	467.1	-	7.7
0	118.0	14.2	-	-35.8	
140	187.0	48.3	394.4	-	8.6
0	217.0	-	-	-34.0	
Versuch 11			$\bar{z} = 14.4 \text{ h}$		
305	29.5	15.0	779.6	-	12.7
0	61.0	10.4	-	-99.0	
224	134.0	17.5	386.8	-	16.5
0	170.0	40.9	-	-63.9	
188	198.0	-	168.3	-	29.1
0	206.0	-	-	-48.9	

Die Netto-Photosyntheseraten zeigen in dem untersuchten Bereich nicht die deutliche Korrelation mit der Beleuchtungsintensität, die man theoretisch erwarten sollte. In manchen Fällen findet sogar eine Steigerung der Rate mit abnehmender Intensität statt. Diese Befunde sind sicherlich nur zu einem kleinen Teil meßtechnisch bedingt, sondern weisen vielmehr auf eine Änderung des physiologischen Zustands der Algen mit steigendem Kultural-

ter hin. Schwankungen von Versuch zu Versuch können außerdem in nicht-identischem Algenmaterial ihre Ursache haben. Eine Hemmung der Assimilation durch Verarmung des Mediums an Bikarbonat ist ebenfalls unwahrscheinlich. Das Medium wurde vor der Inoculation mit 1 % CO_2 in Helium äquilibriert, was zu einem beträchtlichen Anstieg der Bikarbonat-Konzentration führt. Außerdem wurde in Fällen intensiver Produktion das Helium zum Austreiben der Gasprobe durch 1 % CO_2 in Helium ersetzt, um den 'Bikarbonatpool' wieder aufzufüllen (vgl. Kap. 3.2.3 und 2.2.5).

Die Gasumsatzraten bewegen sich in vernünftigen Größenordnungen, und das Verhältnis von Dunkelatmungsrate zu Netto-Photosyntheserate (das R/P-Verhältnis) liegt mit Werten von 3.4 % bis 30.6 % auch im üblichen Rahmen (vgl. Kap. 4.). Der Mittelwert aus allen Verhältniswerten beträgt $15.1 \% \pm 8.8 \%$. Das R/P-Verhältnis ist ebenfalls in Tabelle 8 angegeben.

Zusätzlich sind die momentanen Verdopplungszeiten des Chlorophyll-Gehalts für den Zeitpunkt der Raten-Berechnung verzeichnet. Fehlende Angaben bedeuten, daß die Zunahme der Chlorophyll a - Konzentration geringer als die Meßgenauigkeit war. In Versuch 6 fand kein Biomasse-Zuwachs statt. Die Versuche 9, 10 und 11 zeigen deutlich, daß die Verdopplungszeit wie in normalen Batchkulturen zu Beginn und am Ende groß ist und in der Mitte ein Minimum erreicht. Aus allen Meßpunkten der 'exponentiellen' Wachstumsphase wurde eine Ausgleichsfunktion berechnet. Der daraus errechnete Wert für die Verdopplungszeit ist für jeden Versuch ebenfalls angegeben ($\bar{z}$).

3.4.2 Auswertung der Versuche ohne Gasphase

3.4.2.1 Berechnung der Fraktionierungsfaktoren

Wie aus Abbildung 3 ersichtlich ist, erfolgt die Entnahme von Proben im unteren Teil des Kulturgefäßes, während der Nachfüllstutzen im oberen Teil inseriert. Dadurch, daß das Medium im Reservoir Zimmertemperatur hat, aber die Kultur mit maximal

15 °C stets kälter ist, ergibt sich durch die Probennahme eine Schichtung, die nur durch den Restdrehimpuls in der Kultur gestört wird. Bei wiedereinsetzender Rührung erfolgt eine Durchmischung von kaltem sauerstoffhaltigem und warmem sauerstofffreiem Wasser. Die sich sofort einstellende Anzeige der Sauerstoff-Elektrode ist daher noch zu hoch und wird im Kulturgefäß ohne Algen erst nach ca. 1 bis 2 Stunden endgültig konstant. Die durch das Nachfüllen erfolgte Temperaturerhöhung ist ebenfalls nach ca. 1 Stunde ausgeglichen. Der Unterschied zwischen der Anzeige direkt nach dem Wiedereinschalten der Rührung und dem tatsächlichen Wert nach endgültiger Einstellung, der sog. Relaxationsbeitrag, beträgt etwa 0,1 Schreibereinheiten, d.h. $0.1 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ für Konzentrationen bis zu $10 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bzw. $0.25 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ für Konzentrationen $\geq 10 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$.

Die Ausbildung der oben erwähnten Schichtung durch einen Temperaturgradienten ist insofern wünschenswert als dadurch sichergestellt wäre, daß ausschließlich unvermisches Kulturmedium zur Extraktion gelangt. Andererseits wäre in einem völlig unbewegten Wasserkörper durch Sedimentation der Algen die Probe möglicherweise nicht repräsentativ. Da die Rührung erst kurz vor der Probennahme ausgeschaltet wird, bewirkt der Restdrehimpuls eine gewisse Durchmischung von Zulauf und Kulturmedium. Das zeigt sich deutlich daran, daß die endgültige Sauerstoff-Anzeige nach der Probennahme nicht dem theoretisch zu erwartenden Wert entspricht, sondern umso höher ist, je größer der Restdrehimpuls war. Die Unterschiede können bis zu $0.5 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ betragen.

Versuche ohne Gasphase ermöglichen es, Licht- und Dunkelphasen jeweils getrennt zu betrachten und auszuwerten. Als Phasenbeginn gilt dabei der Zeitpunkt des Beleuchtungsbeginns bzw. des Ausschaltens der Beleuchtung. Das Phasenende wird durch den Zeitpunkt der Probennahme festgelegt. Die Zeitspannen zwischen dem Ende der vorhergehenden und dem Beginn der neuen Phase sind vor allem zu Beginn der Dunkelphase nicht zu vermeiden. Sie wurden aber möglichst kurzgehalten. Da die Proben sowohl zur Isotopenanalyse des Sauerstoffs als auch für begleitende Mes-

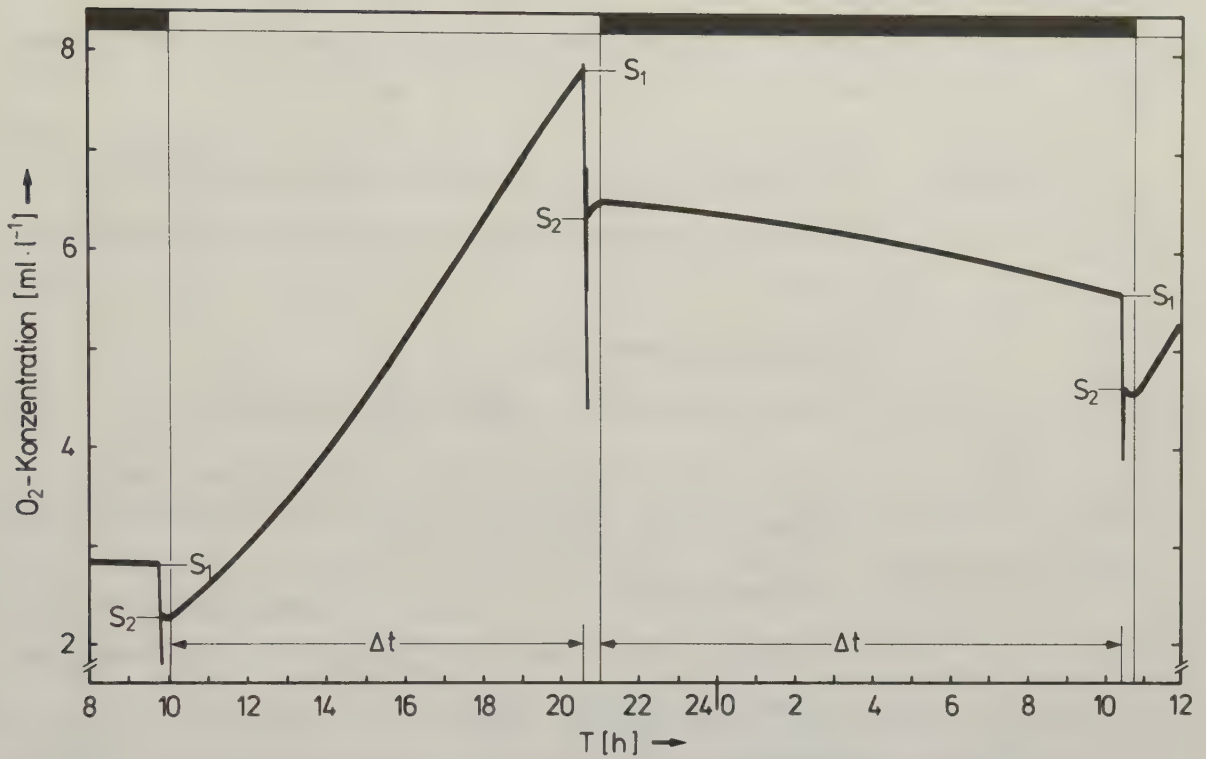


Abb. 13 Typischer Verlauf des Sauerstoff-Gehalts während einer Licht- und einer Dunkelphase im Versuch ohne Gasphase, 15 °C, 163 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{sec}^{-1}$. Die Schreiberanzeigen S₁ und S₂ bezeichnen die Sauerstoff-Konzentration am Ende der alten bzw. zu Beginn der neuen Phase. Die Phasenlänge ist als Δt dargestellt.

sungen verwendet wurden, blieb die Kultur zwischen 2 Probenahmen ungestört. Abbildung 13 zeigt einen typischen Verlauf der Sauerstoff-Entwicklung während einer Hell- und Dunkelphase. Die

Kurven sind wie zu erwarten nicht linear, da parallel zur Veränderung im Sauerstoff-Gehalt ein Zuwachs an Biomasse auftritt und somit die Gasumsatzrate nicht konstant bleibt.

Für jede Probennahme wurden die Ausbeute bei der Umwandlung, die Anfangs-Chlorophyll a - Konzentration nach der Verdünnung und die Anfangskonzentration an Sauerstoff zu Beginn der neuen Phase nach folgendem Schema berechnet. Es bedeuten:

c_{Chl} = Chlorophyll a - Konzentration (ng ml^{-1})

S = Schreiberanzeige der Sauerstoff-Konzentration

V = Kulturvolumen (ml)

ΔV = ausgetauschtes Kulturvolumen (ml)

c_{O_2} = Sauerstoff-Konzentration, berechnet nach Formel (17), ($\text{ml O}_2 \text{ l}^{-1}$)

f_v = Verdünnungsfaktor

V_{ex} = Kulturvolumen, das zur Sauerstoff-Extraktion verwendet wurde (ml)

MO = Gasmenge ($\text{Torr} \cdot \text{l}$) .

Die Indizes 1 und 2 bedeuten 'vor' bzw. 'nach der Probennahme'.

Die Sauerstoff-Konzentration am Ende der vorhergehenden Phase ergibt sich nach Formel (17) direkt aus S_1 . Der theoretische Verdünnungsfaktor f_v' für die Probennahme lautet:

$$f_v' = \frac{V - \Delta V}{V} . \quad (28)$$

Der tatsächliche Verdünnungsfaktor f_v ergibt sich aber zu

$$f_v = \frac{S_2 - 0.1}{S_1} \quad (28a)$$

(0.1 = Relaxationsbeitrag) .

Die Chlorophyll a - Konzentration nach der Probennahme beträgt:

$$c\text{CHl}_2 = c\text{Chl}_1 \cdot f_v \quad (29)$$

Die theoretisch extrahierte Sauerstoff-Menge errechnet sich zu

$$\text{MO}' = c\text{O}_{2,1} \cdot V_{\text{ex}} \cdot 0.752 \quad (30)$$

(752 Torr: mittlerer lokaler Luftdruck in Jülich).

Durch die partielle Mischung wird der Wert für $c\text{O}_2$ aber entsprechend dem Verhältnis von tatsächlichem zu theoretischem Verdünnungsfaktor vermindert. Die tatsächlich entnommene Gasmenge beträgt also

$$\text{MO} = \text{MO}' \cdot \frac{f'_v}{f_v} = c\text{O}_{2,1} \cdot V_{\text{ex}} \cdot 0.752 \cdot \frac{f'_v}{f_v} \quad (30a)$$

Durch Vergleich mit der Gasmenge an CO_2 nach Extraktion und Umwandlung kann zusätzlich die Ausbeute bei der jeweiligen Probennahme bestimmt werden.

Die Sauerstoff-Konzentration zu Beginn einer jeden Phase ist aus den Schreiberaufzeichnungen - wie Abbildung 13 zeigt - nicht eindeutig abzulesen. Daher wurden die jeweils folgenden Äste der Sauerstoffkurve von der ersten bis dritten Stunde benutzt, um als Näherung linear zum Phasenbeginn zu extrapolieren. Diese Werte wurden zur Berechnung der Anfangskonzentrationen in Formel (17) eingesetzt.

Die Ausbeuten von Proben mit Standard-Sauerstoff zur Ermittlung der Kurve in Abbildung 11 wurden entsprechend berechnet. Die Subtraktion von 0.1 Schreibereinheiten war nicht erforderlich, da in diesen Fällen mit der Entnahme der nächsten Probe bis zur Endeinstellung der Sauerstoff-Anzeige gewartet wurde.

Die Errechnung der Fraktionierungsfaktoren entspricht zum Teil dem in ZIELKE und FÖRSTEL (1978) dargestellten Verfahren. Die Indizes o und t stehen für Phasenanfang bzw. Phasenende. Die

Sauerstoff-Mengen M sind in μMol ausgedrückt, die Umrechnung von ml O_2 in $\mu\text{Mol O}_2$ erfolgt über die Umrechnungsfaktoren für 752 Torr und die jeweilige Temperatur gemäß Tabelle 9.

Tabelle 9 Umrechnungsfaktoren bei 752 Torr. $1 \text{ ml O}_2 = f \cdot \text{mMol O}_2$, Molvolumen für Sauerstoff bei 0°C und 760 Torr (aus UHLICH-JOST (1970)).

Temperatur ($^\circ\text{C}$)	f
5	0.04349
10	0.04272
15	0.04198

Während der Lichtphase wird der anfänglich vorhandene Sauerstoff durch Photosynthese vermehrt. Dabei lautet die Massenbilanz:

$$X_{\text{O}} M_{\text{O}} + X_{\text{ps}} M_{\text{ps}} = X_{\text{t}} M_{\text{t}} \quad (31)$$

Daraus folgt:

$$X_{\text{ps}} = \frac{X_{\text{t}} M_{\text{t}} - X_{\text{O}} M_{\text{O}}}{M_{\text{ps}}} \quad (32)$$

Der Fraktionierungsfaktor bei der Photosynthese wird definiert als

$$\alpha_{\text{ps}} = \frac{X_{\text{ps}}}{X_{\text{w}}} = \frac{X_{\text{t}} M_{\text{t}} - X_{\text{O}} M_{\text{O}}}{(M_{\text{t}} - M_{\text{O}}) X_{\text{w}}} \quad \text{mit } M_{\text{ps}} = M_{\text{t}} - M_{\text{O}} \quad (33)$$

In der Dunkelphase wird ein Teil des vorliegenden Sauerstoffs respiriert; die Bilanz lautet also in erster Näherung:

$$X_{O}M_{O} - X_{r}M_{r} = X_{t}M_{t} . \quad (34)$$

Entsprechend der Definition von DOLE (1947) (zitiert aus SCHLESER, 1977) gilt als Fraktionierungsfaktor für die Respiration

$$\alpha_r = \frac{{}^{18}\text{O-Molenbruch im nicht veratmeten Sauerstoff}}{{}^{18}\text{O-Molenbruch im veratmeten Sauerstoff}} = \frac{X_t}{X_r} .$$

In dem vorliegenden abgeschlossenen System beeinflusst jedoch die Fraktionierung z.B. in der ersten Stunde den Ausgangssauerstoff für die Fraktionierung in der nächsten Stunde und so fort. Zur genauen Analyse ist also eine differentielle Betrachtung erforderlich. Anreicherungsprozesse, in denen die Fraktionierung die Isotopenzusammensetzung im Ausgangssubstrat beeinflusst, werden im Falle kleiner Anreicherungen in guter Näherung durch die folgende Formel für eine RAYLEIGH-Fraktionierung beschrieben (BRODSKY, 1961):

$$\frac{X_t}{X_o} = \left(\frac{M_o}{M_t} \right)^{\alpha^*} \quad \text{mit} \quad \alpha^* = \frac{\alpha_r - 1}{\alpha_r} \quad (35)$$

Logarithmieren und Umformen führt zu

$$\alpha^* = \frac{\ln \left(\frac{X_t}{X_o} \right)}{\ln \left(\frac{M_o}{M_t} \right)} . \quad (35a)$$

Einsetzen und Umformen ergibt:

$$\alpha_r = \frac{\ln \left(\frac{M_o}{M_t} \right)}{\ln \left(\frac{M_o}{M_t} \right) - \ln \left(\frac{X_t}{X_o} \right)} . \quad (36)$$

Nach den Formeln (33) und (36) werden die Fraktionierungsfaktoren in den Hell- und Dunkelphasen ermittelt.

3.4.2.2 Theoretische Abschätzung des Beitrags der Dunkelatmung zur Fraktionierung in der Lichtphase und Berechnung der spezifischen Gasumsatzraten

Ein Teil der im Dunkeln stattfindenden Respiration ist mikrobiell bedingt. Es liegt nahe anzunehmen, daß dieser Anteil der Sauerstoffzehrung während der Belichtung hinsichtlich seiner Rate und der dabei auftretenden Fraktionierung unverändert bleibt. Über den Verlauf der sogenannten Dunkelatmung der Algen existieren widersprüchliche Ansichten. Nach BROWN und TREGUNNA (1967), BUNT (1965) und HOCH et al. (1963) nimmt die Dunkelatmung bei Belichtung ab. BROWN (1953) und BUNT und HEEB (1971) verneinen einen Einfluß des Lichts auf die Dunkelatmung. FALKOWSKI und OWENS (1978) fanden in Untersuchungen mariner Phytoplankter nach Hemmung der Photosynthese mit $5 \cdot 10^{-7}$ M DCMU keinen Einfluß der Beleuchtung auf die Respiration.

Um zu klären, ob eine im Hellen unverändert stattfindende 'Dunkelatmung', die auch den bakteriellen Anteil einschließt, für die Fraktionierung in der Lichtphase (s.u.) verantwortlich ist, wurde die Sauerstoff-Entwicklung rechnerisch nachvollzogen. Dabei galten folgende Prämissen:

- (1) Die Dunkelatmung der betrachteten Lichtphase entspricht in Ausmaß und Fraktionierungsfaktor der nachfolgenden Dunkelphase. Falls die Werte dafür nicht bestimmt wurden, wurde für beide Parameter ein Mittelwert aus den bisherigen Dunkelphasen des Versuchs verwendet.
- (2) Der O-18 Molenbruch im photosynthetisch freigesetzten Sauerstoff entspricht dem O-18 Molenbruch des im entsprechenden Versuch eingesetzten Wassers.
- (3) Die Zunahme an Chlorophyll a erfolgt exponentiell mit der Zeit, und die Gasumsätze sind dem Pigmentgehalt direkt proportional.

In einem Simulationsverfahren wurde nun zuerst für die Dunkelphasen die Entwicklung der Biomasse von Stunde zu Stunde er-

mittelt. Die gemittelte Biomasse jedes Intervalls respiriert die der Abnahme der Sauerstoffkonzentration entsprechende Sauerstoffmenge M_r

$$M_r = \Delta cO_2 \cdot V \cdot f \quad (37)$$

(ΔcO_2 : Differenz in der Sauerstoffkonzentration, korrigiert nach Formel (17), V: Volumen, f: Umwandlungsfaktor ml $\rightarrow$ μ Mol).

Bezogen auf die gesamte vorhandene Biomasse lautet die Respirationsrate

$$R_r = \frac{M_r}{\text{Biomasse}} = \frac{\Delta cO_2 \cdot f}{cChl} \quad (38)$$

Die so erhaltenen Raten sind meist während der ganzen Dunkelphase konstant. In einigen Fällen zeigten sich Abweichungen zu Beginn oder am Ende, die vermutlich auf unkontrollierbares Störlicht oder Schwierigkeiten bei der genauen Bestimmung der Anfangs-Sauerstoffkonzentration zurückzuführen sind. Diese Werte wurden bei der Berechnung der mittleren spezifischen Respirationsrate für die betreffende Phase nicht berücksichtigt.

Entsprechend wurde für die Lichtphase verfahren. Die mittlere vorhandene Biomasse jedes Intervalls produziert Sauerstoff entsprechend dem Anstieg in der Sauerstoff-Kurve, dessen ^{18}O Molenbruch dem des Wassers im Kulturmedium entspricht. Die Schreiber-Aufzeichnung gibt nur die Nettophotosyntheserate an. Die Bruttoproduktionsrate ergibt sich aus: Bruttoproduktionsrate = Nettoproduktionsrate + Respirationsrate. Dieser Sauerstoff wird sofort mit dem bisher vorliegenden gemischt.

$$X_{O_2} M_{O_2} + X_{ps} M_{ps} = X_{t,b} M_{t,b} \quad b = \text{brutto} \quad (39)$$

Von dieser Mischung wird entsprechend der Respirationsrate die der Biomasse proportionale Sauerstoffmenge respiriert, wobei gemäß dem eingesetzten Fraktionierungsfaktor für die Respiration der Molenbruch des vorliegenden Sauerstoffs in einem RAYLEIGH-Prozeß verändert wird. Nach Formel (35) gilt entspre-

chend

$$\frac{X_{t,n}}{X_{t,b}} = \left(\frac{M_{t,b}}{M_{t,n}} \right)^{\frac{\alpha_r - 1}{\alpha_r}} \quad n = \text{netto} . \quad (40)$$

Auflösen und Umformen ergibt:

$$X_{t,n} = X_{t,b} \left(\frac{M_{t,b}}{M_{t,n}} \right)^{\frac{\alpha_r - 1}{\alpha_r}} . \quad (41)$$

Der so erhaltene Wert stellt den Molenbruch zur Zeit t nach eingetretener Respiration dar. Auf die dargestellte Art und Weise wird die Zunahme des Sauerstoffs während der Lichtphase in diskreten Einzelschritten nachvollzogen und dabei die theoretische Verschiebung im Isotopenverhältnis simuliert. Der am Ende der gesamten Lichtphase erhaltene Wert für X wird als X_t in Formel (32) eingesetzt und dadurch der Fraktionierungsfaktor α'_{ps} berechnet, der unter den eingangs festgelegten Annahmen zu erwarten wäre. Durch Vergleich mit dem in dieser Lichtphase tatsächlich gefundenen Wert für α_{ps} wird α'_{ps} definiert als

$$\alpha'_{ps} = \alpha_{ps} - \alpha'_{ps} . \quad (42)$$

Dieser Wert gibt also den Anteil an Fraktionierung an, der nicht mehr nur auf bloße Beibehaltung der Dunkelatmung während der Belichtung zurückgeführt werden kann.

Gleichzeitig wurden die Werte für die Produktionsrate in Intervallen von einer Stunde nach Formel (38) berechnet. Extremwerte zu Phasenanfang, die durch ungenaue Bestimmung der Anfangskonzentration an Sauerstoff hervorgerufen wurden, und abnehmende Raten bei hohen Sauerstoff-Konzentrationen (vgl. Kap. 3.4.2.6) wurden bei der Berechnung der mittleren spezifischen Photosyntheserate nicht berücksichtigt.

In manchen Versuchen traten trotz vorheriger Entgasung in Phasen intensiver Produktion Gasblasen auf, deren Gasvolumen als

Niveauänderung im Probennahme-Stutzen ermittelt werden konnte. Unter Berücksichtigung der Restdrucke bei der Umwandlung (vgl. Kap. 3.3.2) wurde ein Sauerstoff-Gehalt von 90 % angenommen und eine mögliche Verschiebung im ^{18}O -Gehalt, wie sie von KROOPNICK und CRAIG (1972) bei der Äquilibrierung von Luftsauerstoff mit Meerwasser gefunden wurde, vernachlässigt (vgl. Kap. 3.3.2). Die in den Blasen enthaltene Sauerstoffmenge wurde sowohl bei der Ermittlung der Produktionsraten und des α_{ps} -Wertes als auch bei der Simulation zur Berechnung von α'_{ps} berücksichtigt.

Durch fehlgeschlagene Probennahmen traten in den Sauerstoff-Kurven mancher Versuche Sprünge auf. Die Fraktionierungsfaktoren und Gasumsatzraten wurden unter Berücksichtigung der Biomasse-Verdünnung und ohne Beachtung von Mischung und Relaxation berechnet. Sie stellen also nur angenäherte Resultate dar.

3.4.2.3 Einfluß von Beleuchtung, Temperatur und Sauerstoff-Konzentration auf die Verdoppelungszeit

Die Verdoppelungszeiten für die Chlorophyll a - Konzentration zeigen keine deutliche Korrelation mit einem der oben genannten Parameter. Sie haben in den meisten Versuchen einen Verlauf, der dem in den Versuchen mit Gasphase entspricht, d.h. hohe Werte zu Beginn, minimale Verdoppelungszeit in der Versuchsmitte und erneut hohe Werte am Ende. Wenn man z.B. die Verdoppelungszeiten mit Werten unter 120 h in den Dunkelphasen der Versuche bei 15 °C mit der vorliegenden Sauerstoff-Konzentration vergleicht, so zeigt sich, daß sie mit steigendem Sauerstoff-Gehalt und entsprechend zunehmendem Kulturalter ansteigen. Obwohl den Zellen stets frisches Nährmedium zugeführt wird, zeigt sich eine Kinetik wie in einer normalen Batch-Kultur. Es ist also anzunehmen, daß unter den vorliegenden Versuchsbedingungen wahrscheinlich nicht nur Nitrat-Erschöpfung (SCHÖNE, 1977) für die Beendigung des exponentiellen Wachstums verantwortlich ist.

Unterschiede im Chlorophyll-Gehalt zwischen Phasenanfang und

Phasenende von weniger als 5 % wurden gemäß Kapitel 3.1.2 als zufallsbedingt angesehen. Die minimalen Verdoppelungszeiten in Versuchen bei 15 °C betragen 6.6 h in der Licht- und 17.9 h in der Dunkelpase. Für 10 °C lauten die Werte entsprechend 12.0 und 13.5 h bzw. 29.3 und 48.4 für 5 °C.

Gelegentlich traten sowohl während der Hell- als auch während der Dunkelpase negative Werte auf, bei 15 °C bis auf einen Wert nur in der Dunkelpase, bei 10 °C mit zunehmender Tendenz in der Lichtphase und bei 5 °C oft in der Lichtphase und fast ausschließlich in der Dunkelpase. Eine Erklärung für diesen Sachverhalt kann zur Zeit noch nicht gegeben werden, zumal die Zellen morphologisch unauffällig waren und die Photosynthese bzw. Respiration normal verliefen.

3.4.2.4 Einfluß von Temperatur, Sauerstoff-Konzentration und Lichtintensität auf die Dunkelatemungsrate.

Die Dunkelatemungsraten und die respiratorischen Fraktionierungsfaktoren (α_r) sind in den Tabellen 10a-10c für alle drei Versuchstemperaturen aufgeführt. Die Daten sind nach steigender mittlerer Sauerstoff-Konzentration geordnet. Zusätzlich ist in der letzten Spalte der prozentuale Anteil der Dunkelatemung - bezogen auf die Nettophotosyntheserate der vorhergehenden Lichtphase -, das R/P-Verhältnis, angegeben. Die mit einem * bezeichneten Raten stammen aus Versuchen mit an ^{18}O angereicher-tem Karbonat-Zusatz; der Zusatz 'a' bezeichnet Werte, die vermutlich aufgrund einer Fehlbestimmung als nicht repräsentativ angesehen werden können und nach der in DOERFFEL (1962) angegebenen Methode auf dem 95 % - Signifikanzniveau als 'Ausreißer' gesichert sind.

Eine chronologische Anordnung der Raten bei 15 °C für jeden Versuch zeigt, daß sie manchmal während des Versuchsablaufs ein Minimum durchlaufen. Dieser Sachverhalt gilt nicht für das R/P-Verhältnis und wurde auch nicht bei den anderen Versuchstemperaturen bestätigt.

Tabelle 10a Sauerstoffkonzentration cO_2 (ml O_2 l⁻¹), Dunkel-
atmungsrate R_r (μ Mol O_2 h⁻¹ mg Chl a⁻¹), Fraktio-
nierungsfaktor α_r und R_r/R_{ps} -Verhältnis (%) aus
Versuchen ohne Gasphase bei 15 °C; a: stati-
stisch gesicherte 'Ausreißer', *: Versuche mit
Zusatz von an ¹⁸O angereichertem Kaliumkarbonat.

cO_2	R_r	α_r	R_r/R_{ps}
2.59	109.7	1.02484	21.9
3.11	55.8	1.03040	17.8
3.15	39.7	-	8.3
4.02	37.7	1.03511	13.6
4.88	69.9	1.02858	7.7
4.93	54.0	1.08208 ^a	16.1
4.96	37.5	1.03193	6.9
5.07	70.4	-	-
5.34	71.2	1.02174	21.6
5.69	57.7	1.02486	18.2
5.89	58.6	1.02478	10.8
6.23	81.0	1.02970	12.6
6.39	50.3	1.02477	8.9
6.51	63.6	1.02681	11.1
6.76	52.4	1.02139 [*]	21.4
6.96	23.9	-	6.2
7.20	24.3	-	-
7.51	49.7	1.02587 [*]	15.4
7.83	38.8	1.02375	16.1
7.88	30.0	1.01436	8.3
7.95	61.9	1.02267	9.1
8.46	40.4	1.02372	10.5
8.61	60.2	1.02011	9.6
8.72	22.3	1.01886	-
9.66	37.1	1.02795	9.3
9.71	45.8	1.02585 [*]	10.1
11.20	14.1	1.03067	8.4
11.81	28.9	1.03142	8.5

Tabelle 10b Daten wie in Tabelle 10a, Versuchstemperatur
10 °C.

cO_2	R_r	α_r	R_r/R_{ps}
2.06	29.8	1.03426	10.8
2.69	37.8	1.02319	7.6
3.14	36.3	1.02267	11.2
3.22	42.9	1.03016	14.8
3.39	60.1	1.02197	12.1
3.89	55.2	-	-
4.23	77.8	1.03650	17.3
4.24	64.1	1.03727	9.6
4.50	20.0	-	9.4
4.73	32.9	1.02413	7.1
5.85	35.4	1.02366	8.4
6.37	20.9	1.04917 ^a	8.1
6.63	79.0	1.02141	13.1
7.98	49.5	1.02235	15.3
8.24	47.4	1.02233 [*]	-
8.26	195.8 ^a	1.02308	-
8.29	33.0	1.07099 ^a	6.0
9.44	48.3	-	6.9
10.49	52.3	1.02649	7.6
10.60	36.0	1.02294	15.0
11.46	38.9	1.02626	-
11.86	30.9	-	23.5
12.11	44.0	1.01585	10.3
12.87	65.0	-	11.9

Tabelle 10c Daten wie in Tabelle 10a, Versuchstemperatur
5 °C.

cO_2	R_r	α_r	R_r/R_{ps}
2.67	13.8	-	7.1
3.12	13.3	1.03593	5.6
3.39	22.3	1.02495	8.7
5.58	46.3	1.03200	32.1 ^a
6.93	40.6	1.01402	13.9
7.49	19.9	1.02358	9.2
9.82	30.7	1.02116	9.7

Wie Abbildung 14 veranschaulicht, ist die spezifische Respirationsrate bei 15 °C mit der mittleren Sauerstoff-Konzentration negativ korreliert. Die Regressionsgerade lautet:
 $y = -4.98x + 83.18$. Der Korrelationskoeffizient $r = 0.562$ sowie der Regressionskoeffizient $b = -4.98$ sind bei $n = 28$ Wertepaaren auf dem 95 %-Signifikanzniveau statistisch gesichert von Null verschieden. Diese Beziehung ist bei den anderen Versuchstemperaturen nicht ausgebildet und ist insofern ungewöhnlich, als steigender Sauerstoff-Gehalt im allgemeinen mit zunehmendem Kulturalter einhergeht. Da in älteren Versuchsansätzen der mikrobielle Anteil nach mikroskopischer Schätzung ansteigt (vgl. Kap. 3.1.3), ist an sich ein umgekehrter Verlauf zu erwarten. Der Befund ist möglicherweise ein Indiz dafür, daß bei 15 °C die Algen die Bakterien bezüglich ihrer Anteile an der Gesamtrespiration in den Hintergrund drängen, was bei den niedrigen Temperaturen - bedingt durch Unterschiede im Temperaturanspruch - nicht mehr zutrifft. Andererseits fanden KENNER und AHMED (1975) bei Untersuchungen am Elektronen-Transportsystem mariner Phytoplankter ebenfalls eine Abnahme der Aktivität mit dem Kulturalter.

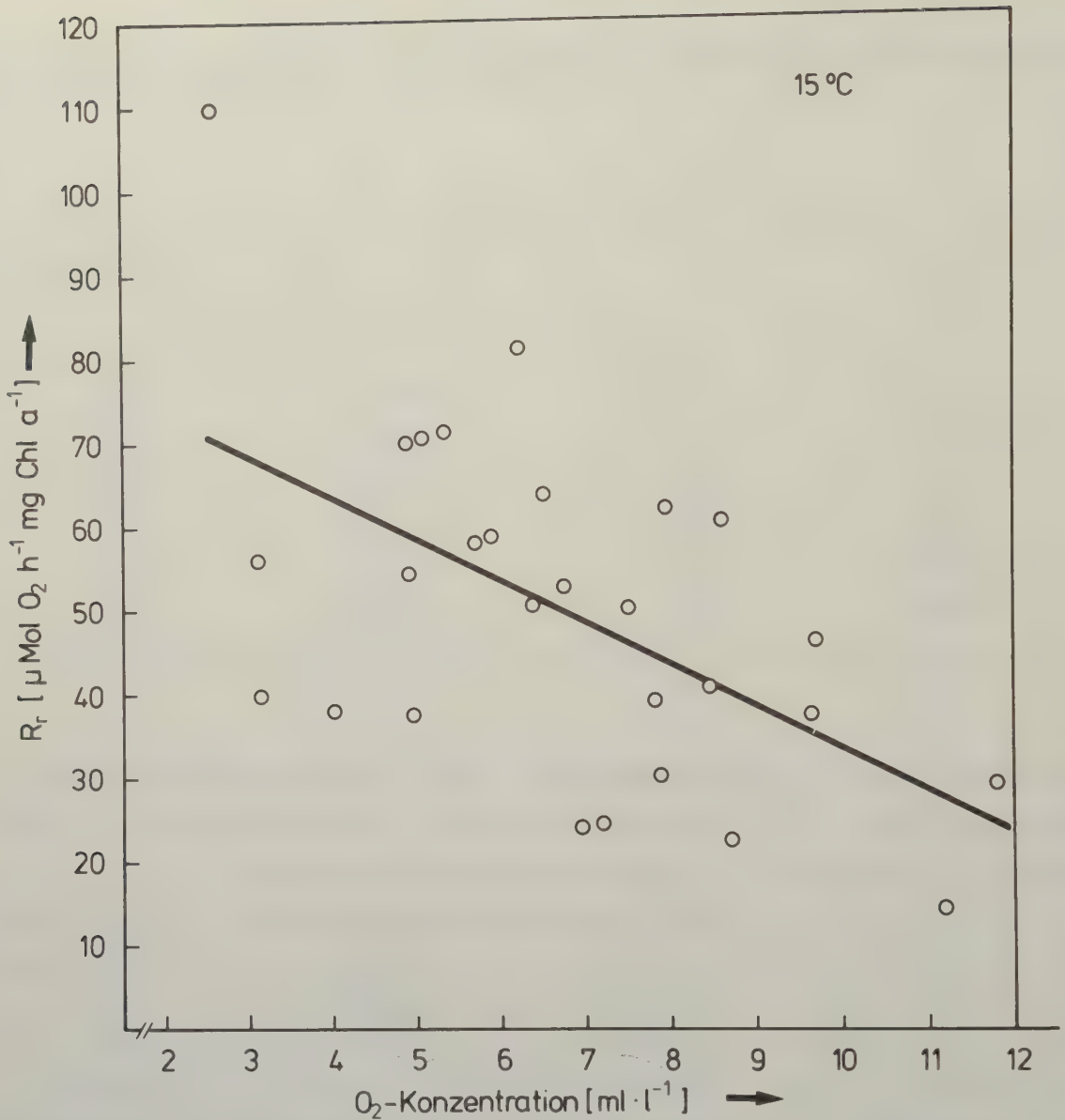


Abb. 14 Abhängigkeit der Dunkelatemungsrate R_r von der Sauerstoff-Konzentration in Versuchen bei 15 °C.

Überraschenderweise zeigt Abbildung 15, daß die Dunkelatemungsrate bei 15 °C auch mit der mittleren Lichtintensität in der vorhergehenden Lichtphase linear korreliert ist. Die Geradengleichung lautet $y = 0.13x + 30.59$. Der Regressionskoeffizient 0.13 und der Korrelationskoeffizient $r = 0.62$ sind bei $n = 26$ Meßpunkten signifikant von Null verschieden. Bei 10 °C ist diese Beziehung leicht angedeutet, wohingegen bei 5 °C keine Zuordnung möglich ist.

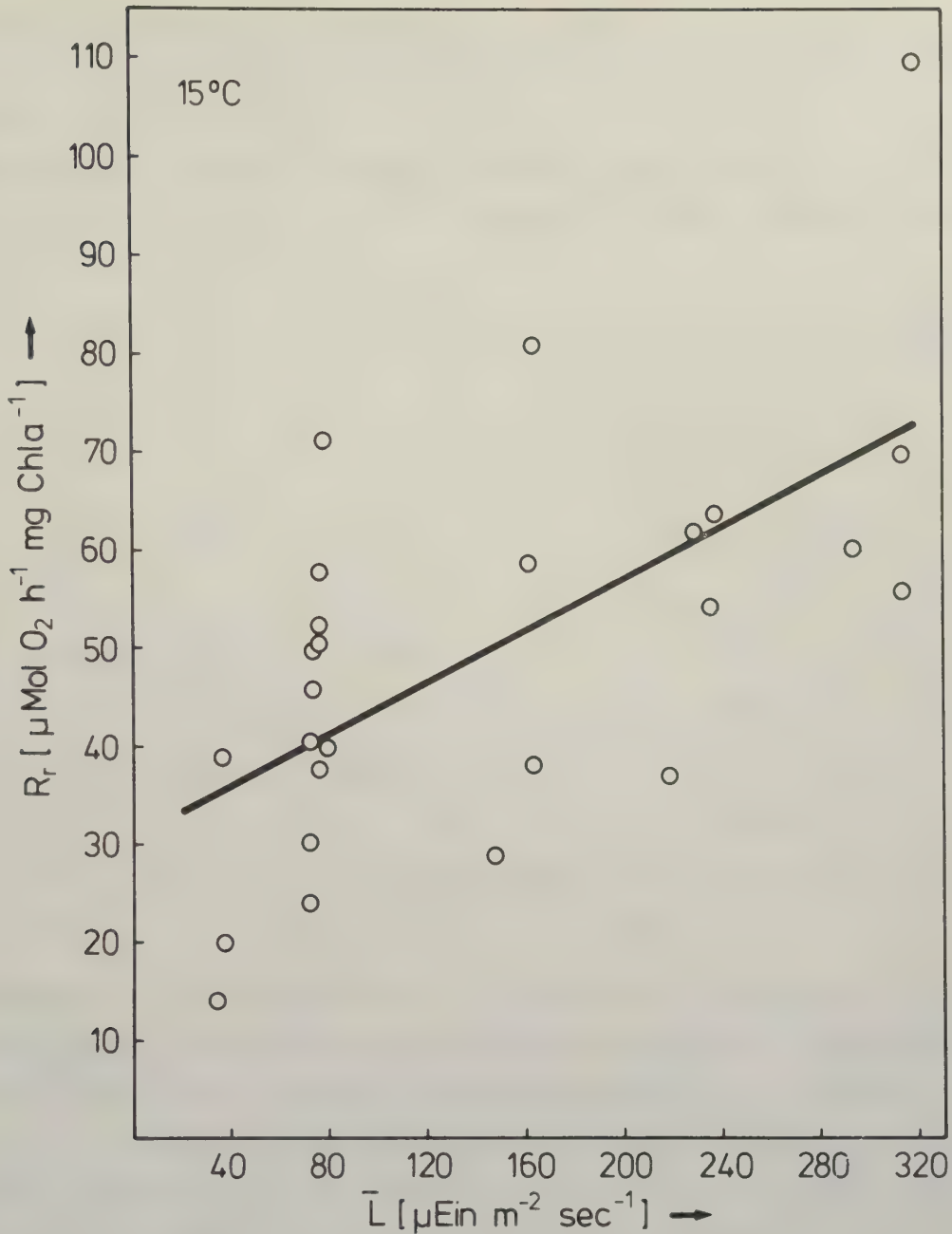


Abb. 15 Abhängigkeit der Dunkelatmungsrate R_r von der Lichtintensität der vorhergehenden Lichtphase in Versuchen bei 15 °C.

Die Mittelwerte der Atmungsraten aller drei Temperaturen sind in Tabelle 11 zusammengefaßt und wurden mit dem t-Test auf Signifikanz auf dem 95 %-Niveau geprüft. Die Raten bei 15 °C und

Tabelle 11 Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung für R_r , α_r und das R_r/R_{ps} -Verhältnis aus den Tabellen 10a bis 10c, zusätzlich ist die Anzahl der Meßwerte (n) angegeben. Werte mit dem Zusatz 'a' wurden nicht berücksichtigt (vgl. Text).

$T(^{\circ}\text{C})$	R_r [$\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$]	α_r	R_r/R_{ps} [%]
5	26.7 ± 12.9 n = 7	1.02527 ± 0.0078 n = 6	9.0 ± 2.8 n = 6.0
10	45.1 ± 16.1 n = 23	1.02556 ± 0.0058 n = 17	11.3 ± 4.3 n = 20
15	49.5 ± 20.6 n = 28	1.02566 ± 0.0048 n = 23	12.3 ± 4.9 n = 25

10 $^{\circ}\text{C}$ sind jeweils signifikant von der Rate bei 5 $^{\circ}\text{C}$ verschieden, wohingegen zwischen ihnen kein signifikanter Unterschied besteht. Tabelle 11 gibt auch die Mittelwerte für das R/P-Verhältnis an. Hier sind alle drei Werte nicht signifikant voneinander verschieden. Die Respirationsraten bei den verschiedenen Temperaturen erlauben die Berechnung von Q_{10} -Werten und Aktivierungsenergien E_a . Aus den Raten bei 5 und 10 $^{\circ}\text{C}$ errechnet sich der Q_{10} -Wert zu 2.85 und der Wert für E_a zu 16.4 kcal Mol $^{-1}$. Aus den Raten bei 10 $^{\circ}\text{C}$ und 15 $^{\circ}\text{C}$ betragen die Werte jedoch 1.21 bzw. 3.0 kcal Mol $^{-1}$. Der E_a -Wert von 16.4 kcal Mol $^{-1}$ stimmt sehr gut mit den Werten für gemischte marine Planktonproben aus PACKARD et al. (1975) überein. Der beträchtliche Unterschied der Parameter mit zunehmender Temperatur deutet auf erhebliche physiologische Veränderungen hin.

3.4.2.5 Einfluß von Temperatur und Sauerstoff-Konzentration auf die Fraktionierung in der Dunkelphase

Die Werte für α_r sind ebenfalls in den Tabellen 10a - 10c und 11 aufgeführt. Die Bedeutung der Zeichen 'a' und '*' ist bereits auf Seite 76 erläutert.

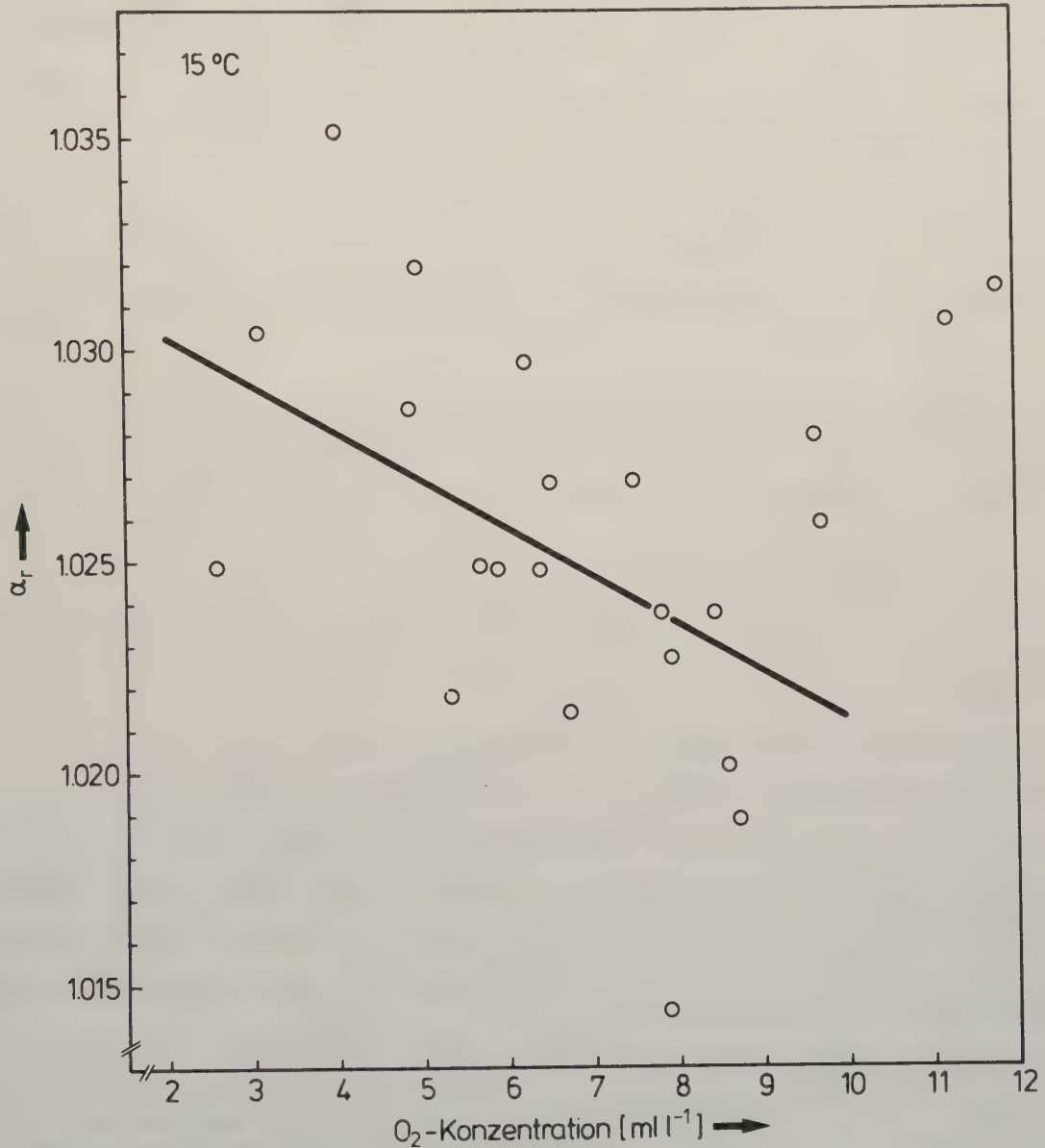


Abb. 16 Abhängigkeit des Fraktionierungsfaktors α_r bei der Dunkelatmung von der Sauerstoff-Konzentration in Versuchen bei 15 °C. Meßpunkte und Sauerstoff-Konzentrationen $>10\ ml\ l^{-1}$ und mit dem Zusatz 'a' wurden zur Berechnung der Regressionsgeraden nicht miteinbezogen, (vgl. Tabelle 10 a).

Eine Korrelation zwischen Atmungsrate und Fraktionierungsfaktor konnte in keinem Fall gefunden werden. Allerdings zeigen die Fraktionierungsfaktoren bei 15 °C und 10 °C eine negative Korrelation mit der Sauerstoff-Konzentration. Für 15 °C lautet die Regressionsgerade $y = -1.13 \cdot 10^{-3}x + 1.03260$. Sie ist in Abbildung 16 dargestellt. Die beiden Meßpunkte mit Sauerstoff-Konzentrationen $>10 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ liegen extrem weit außerhalb der Punktwolke.

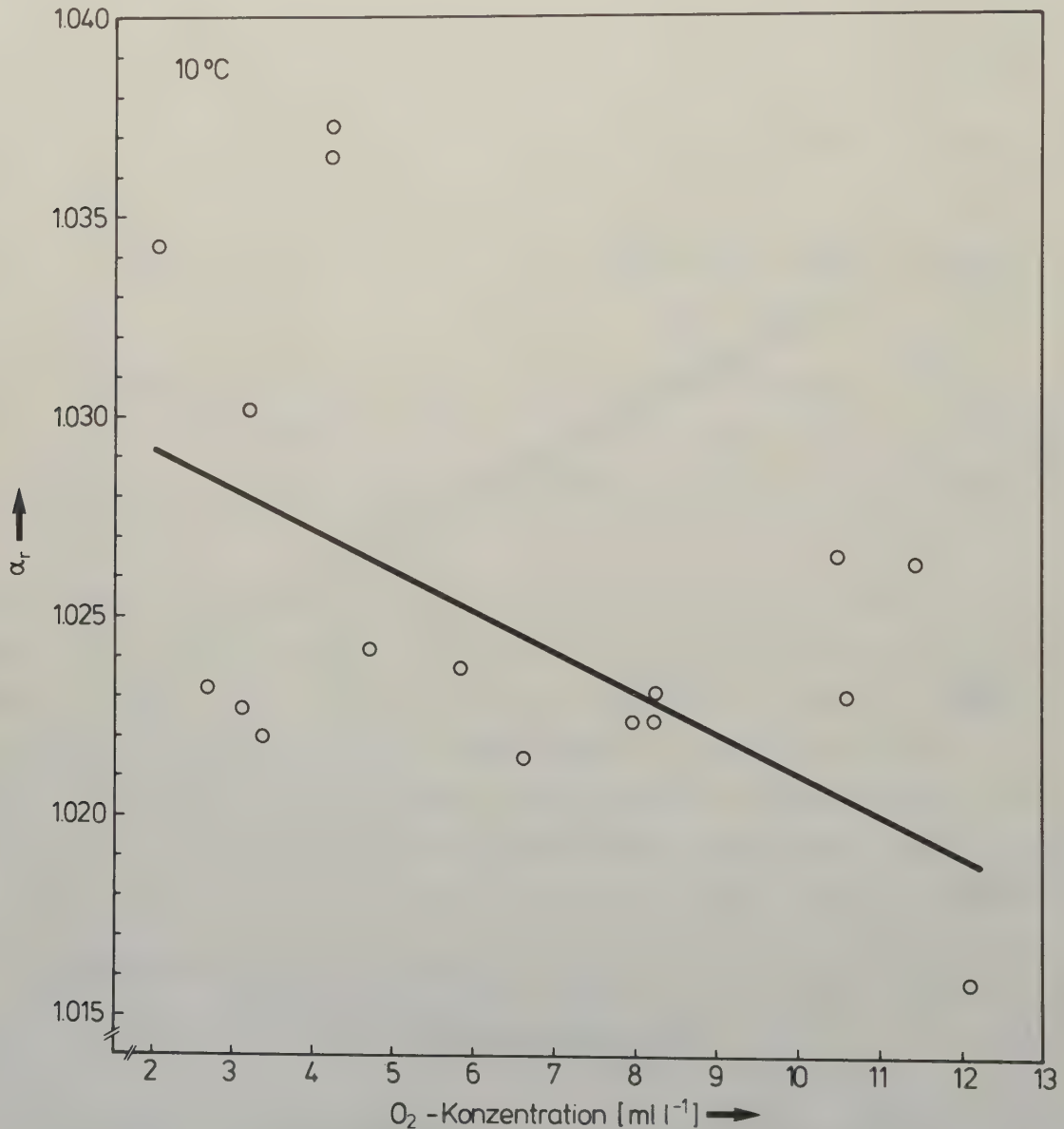


Abb. 17 Abhängigkeit des Fraktionierungsfaktors α_r bei der Dunkelatmung von der Sauerstoff-Konzentration in Versuchen bei 10 °C. Meßpunkte mit dem Zusatz 'a' wurden nicht in die Berechnung der Regressionsgeraden mit-einbezogen, (vgl. Tabelle 10 b).

Sie wurden bei der Berechnung der Ausgleichsgeraden nicht berücksichtigt. Der Korrelationskoeffizient $r = -0.486$ und der Regressionskoeffizient $b = -1.13 \cdot 10^{-3}$ sind für $n = 21$ Meßpunkte statistisch signifikant von Null verschieden.

Für 10°C ist die Beziehung in Abbildung 17 dargestellt. Werte mit dem Zusatz 'a' wurden ausgelassen. Die eingezeichnete Gerade hat die Gleichung $y = -0.807 \cdot 10^{-3}x + 1.03081$. Der Korrelationskoeffizient $r = -0.471$ und der Regressionskoeffizient $b = -0.807 \cdot 10^{-3}$ sind allerdings nicht mehr signifikant von Null verschieden ($n = 16$). Bei 5°C ist eine ähnliche Beziehung angedeutet, aber die Anzahl der Meßpunkte ist zu gering, um eine statistische Auswertung durchzuführen.

Die Mittelwerte der Fraktionierungsfaktoren sind ebenfalls in Tabelle 11 zusammengefaßt. Sie zeigen für alle drei Versuchstemperaturen eine bemerkenswerte Übereinstimmung.

3.4.2.6 Einfluß von Lichtintensität, Temperatur und Sauerstoff-Konzentration auf die Netto-Photosyntheserate

Die Raten der Nettophotosynthese oder apparenten Photosynthese sind in den Tabellen 12a - 12c in Gruppen etwa gleicher Lichtintensität aufgeführt. Innerhalb der Gruppen wurde eine Anordnung nach steigender mittlerer Sauerstoff-Konzentration gewählt. Zusätzlich sind auch noch die Werte für die Fraktionierung während der Photosynthese $-\alpha_{\text{ps}}$ und α'_{ps} angegeben. Werte mit * stammen wieder aus Versuchen mit ^{18}O -Karbonat-Zugabe. Zur Berechnung der Lichtintensität gemäß Kapitel 3.2.2 wurde als Pigmentgehalt pro Zelle 30 pg eingesetzt.

Innerhalb einer Gruppe mit in etwa gleicher Lichtintensität ist keine eindeutige Beziehung zwischen mittlerer Sauerstoff-Konzentration und gemittelter Photosyntheserate festzustellen. Wenn man dagegen während einer Lichtphase die stündliche Entwicklung der Gasumsatzrate verfolgt, so zeigt sich in einigen Fällen eine deutliche Hemmung bei hohen Sauerstoff-

Tabelle 12a Mittlere Lichtintensität $\bar{L}$ ($\mu\text{Ein m}^{-2} \text{sec}^{-1}$), mittlere Sauerstoffkonzentration $c\text{O}_2$ ($\text{ml O}_2 \text{l}^{-1}$), Nettophotosyntheserate R_{ps} ($\mu\text{Mol O}_2 \text{h}^{-1} \text{mg Chl a}^{-1}$) sowie unkorrigierter α_{ps} und korrigierter α'_{ps} Fraktionierungsfaktor während der Photosynthese aus Versuchen bei 15 °C. Die Zusätze bedeuten: * = Versuch mit an ^{18}O angereichertem Kaliumkarbonat, 'a' = statistisch gesicherte Ausreißer, 'b' = ungesicherte Ausreißer.

$\bar{L}$	$c\text{O}_2$	R_{ps}	α_{ps}	α'_{ps}
38	2.69	117.6	-	-
37	4.85	228.0	1.00568	1.00360
36	8.04	240.4	1.00717	1.00515
34	11.16	168.4	1.00592	1.00450
79	1.82	479.5	-	-
76	4.38	545.6	1.00556	1.00383
75	5.40	566.4	1.00571	1.00409
77	5.73	330.2	1.00776	1.00610
76	5.98	316.9	1.01002	1.00750
72	6.10	371.3	-	-
76	7.18	245.4	1.00940*	1.00707*
72	7.23	361.7	1.00643	1.00596
74	7.54	323.6	1.00893	1.00620
75	7.73	198.4	-	-
72	9.06	383.5	1.00716	1.00629
73	9.38	455.4	1.00751*	1.00566*
163	2.47	277.4	1.01587 ^a	1.01207 ^a
158	3.69	454.2	-	-
165	4.27	367.7	-	-
163	5.17	644.4	1.00641	1.00362
161	5.54	540.8	1.00728	1.00546
157	9.22	776.0	1.00716	1.00616
147	10.38	340.0	1.00644	1.00475

Tabelle 12a - Fortsetzung -

$\bar{L}$	cO_2	R_{ps}	α_{ps}	α'_{ps}
236	3.06	336.1	1.01213 ^b	1.00861 ^b
237	4.06	574.5	1.00450 ^b	1.00231 ^b
229	7.58	678.7	1.00826	1.00697
219	9.74	397.2	1.00669	1.00524
318	1.73	501.6	1.01090	1.00699
314	2.14	313.4	1.00853	1.00450
314	3.94	911.9	1.00877	1.00726
279	7.00	441.8	-	-
294	8.05	625.2	1.00715	1.00580

Tabelle 12b Daten wie in Tabelle 12a, Versuchstemperatur 10 °C.

$\bar{L}$	cO_2	R_{ps}	α_{ps}	α'_{ps}
37	3.30	212.2	-	-
37	8.26	266.0	1.00804	1.00626
35	11.20	245.2	-	-
34	14.00	131.4	-	-
72	5.72	259.3	1.00562	1.00469
73	7.77	547.7	1.00533	1.00447
73	11.75	426.7	1.00716	1.00651
166	3.20	552.2	-	-
167	4.33	450.4	1.00780	1.00331
162	5.99	424.2	1.00816	1.00684
158	6.48	601.6	1.00778	1.00601
156	12.72	545.4	1.00684	1.00496

Tabelle 12b - Fortsetzung -

$\bar{L}$	cO_2	R_{ps}	α_{ps}	α'_{ps}
242	3.70	290.0	1.00820	1.00560
240	3.71	670.7	1.00821	1.00559
232	4.23	462.0	1.00775	1.00660
229	8.34	704.6	-	-
231	10.03	601.6	1.00686	1.00502
316	1.56	275.1	1.00880	1.00614
313	2.15	323.8	1.00958	1.00772
314	2.47	500.2	1.00838	1.00734
313	3.35	496.6	1.00694	1.00583
301	8.41	324.0	1.00762	1.00576
308	9.63	487.0	1.00995	1.00845

Tabelle 12c Daten wie in Tabelle 12a, Versuchstemperatur 5 °C.

$\bar{L}$	cO_2	R_{ps}	α_{ps}	α'_{ps}
38	3.00	236.0	-	-
36	7.98	216.6	1.00697	1.00568
77	7.30	292.3	1.00715	1.00638
161	1.35	193.9	-	-
165	6.00	237.0	1.01250 ^a	1.01006 ^a
157	10.54	316.1	1.00773	1.00651
237	3.33	256.3	1.00782	1.00650
235	6.58	144.4	1.00654	1.00023 ^a
317	3.12	208.2	1.00914	1.00729
306	9.35	338.3	1.00820	1.00636

Konzentrationen. Abbildung 18 zeigt diesen Sachverhalt für einige ausgewählte Lichtphasen.

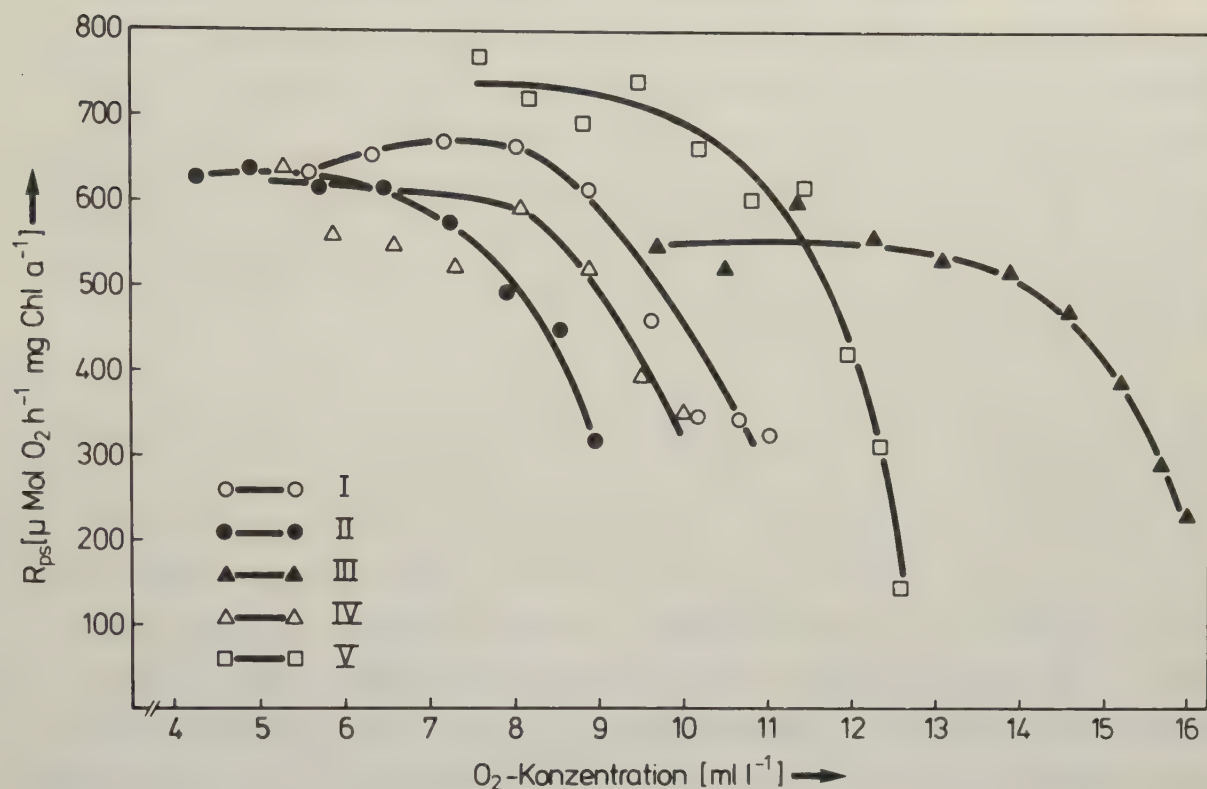


Abb. 18 Abhängigkeit der Netto-Photosyntheserate von der aktuellen Sauerstoff-Konzentration, dargestellt an ausgewählten Lichtphasen. I + V: 15 °C, II - IV: 10 °C. Die Lichtintensitäten betragen ($\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$): I: 294, II: 158, III: 156, IV: 73, V: 231. Bei den Versuchen zu den Kurven I, IV und V traten Gasblasen auf.

Die Kurven I und II stammen aus Versuchen bei 15 °C bei Beleuchtung mit 294 bzw. 231 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$, die Kurven II bis IV aus Versuchen bei 10 °C bei Beleuchtung mit 158, 73 und 156 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$. In den Lichtphasen, die in den Kurven I, IV und V dargestellt sind, war die Produktion so intensiv, daß sich im Kulturgefäß Gasblasen abschieden.

Bei einer Salinität von 32.5 ‰ und einem mittleren lokalen Luftdruck von 752 Torr beträgt der Sauerstoff-Gehalt im luft-gesättigten Meerwasser $5.71 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bei 15°C bzw. $6.35 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bei 10°C (RILEY und SKIRROW, 1975). Die Reduktion der Photosyntheserate reicht von 45.9 bis 81.4 % und beträgt im Mittel $57.0 \pm 14.0 \%$. Sie beginnt bereits bei Konzentrationen von $\geq 6 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$, also in etwa bei Luftsättigung. Die Unterschiede in der Grenzkonzentration und im Ausmaß der Hemmung sind vermutlich sowohl durch den Einfluß von Umweltfaktoren (Versorgung mit HCO_3^- , Beleuchtung) als auch durch physiologische Unterschiede der Algen bedingt.

Die Abhängigkeit der Netto-Photosyntheserate von der mittleren Lichtintensität ist für 5°C und 10°C in Abbildung 19 und für 15°C in Abbildung 20 dargestellt. Auch hier zeigt sich eine beträchtliche Streuung der Einzelwerte, welche vermutlich auf physiologische Unterschiede zurückzuführen ist. Die Dreiecke in den Abbildungen stellen die Mittelwerte einer jeden Punktserie dar. Die eingezeichneten Kurven sind den Mittelwerten angepaßt. Für 5°C ist von ca. $80 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ an keine nennenswerte Zunahme der Sauerstoff-Produktion mit steigender Beleuchtungsintensität mehr festzustellen, der Verlauf ist an sich typisch für niedrige Temperaturen. Bei 10°C ist eine sehr ausgeprägte Abhängigkeit von der Einstrahlung festzustellen, allerdings tritt ab $240 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ eine Verminderung des Gasumsatzes ein. Die Rate bei $311 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ (vgl. Tab. 12) ist indessen nach Prüfung mit dem t-Test für einseitige Fragestellung auf dem 95 % - Signifikanzniveau nicht statistisch gesichert geringer als diejenige bei $235 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$. Bei 15°C entspricht der Verlauf der Kurve dem Standardfall der Abhängigkeit einer Photosyntheserate von der Beleuchtungsintensität. Die gemittelten Werte für P_{max} (= maximale Netto-Photosyntheserate) betragen etwa $280 \mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$ bei 5°C und etwa $550 \mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$ bei 10°C bzw. 15°C . Die Sauerstoff-Konzentration erreicht im Höchstfall Werte von $14.03 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bei 15°C (≈ 2.46 -facher Luftsättigungswert) bzw. $16.13 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bei 10°C (≈ 2.54 -fache Luftsättigung).

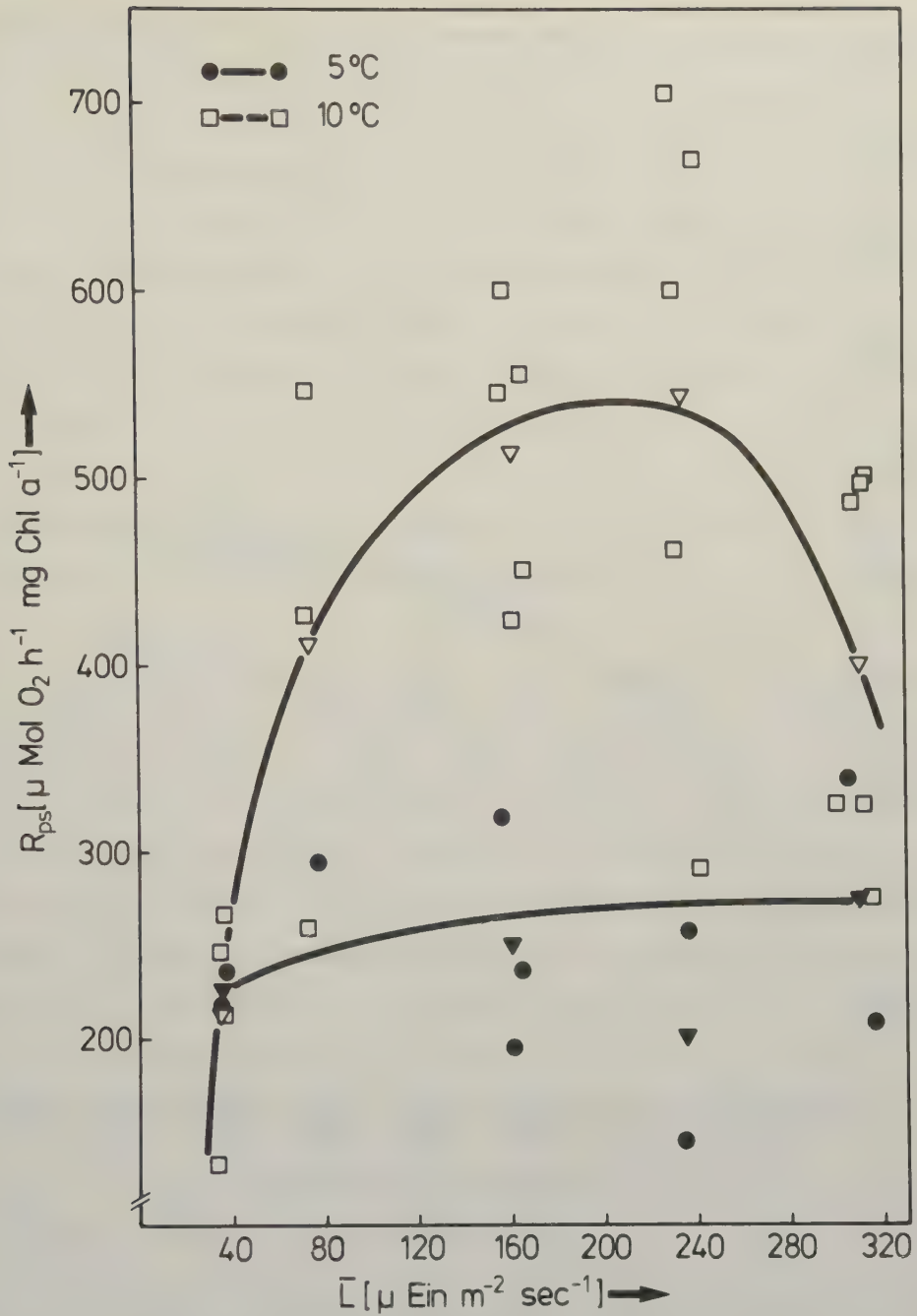


Abb. 19 Netto-Photosyntheserate als Funktion der mittleren Lichtintensität für 5 °C und 10 °C. Dreiecke geben die arithmetischen Mittel aller Einzelwerte für die betreffende Kombination von Lichtintensität und Temperatur an.

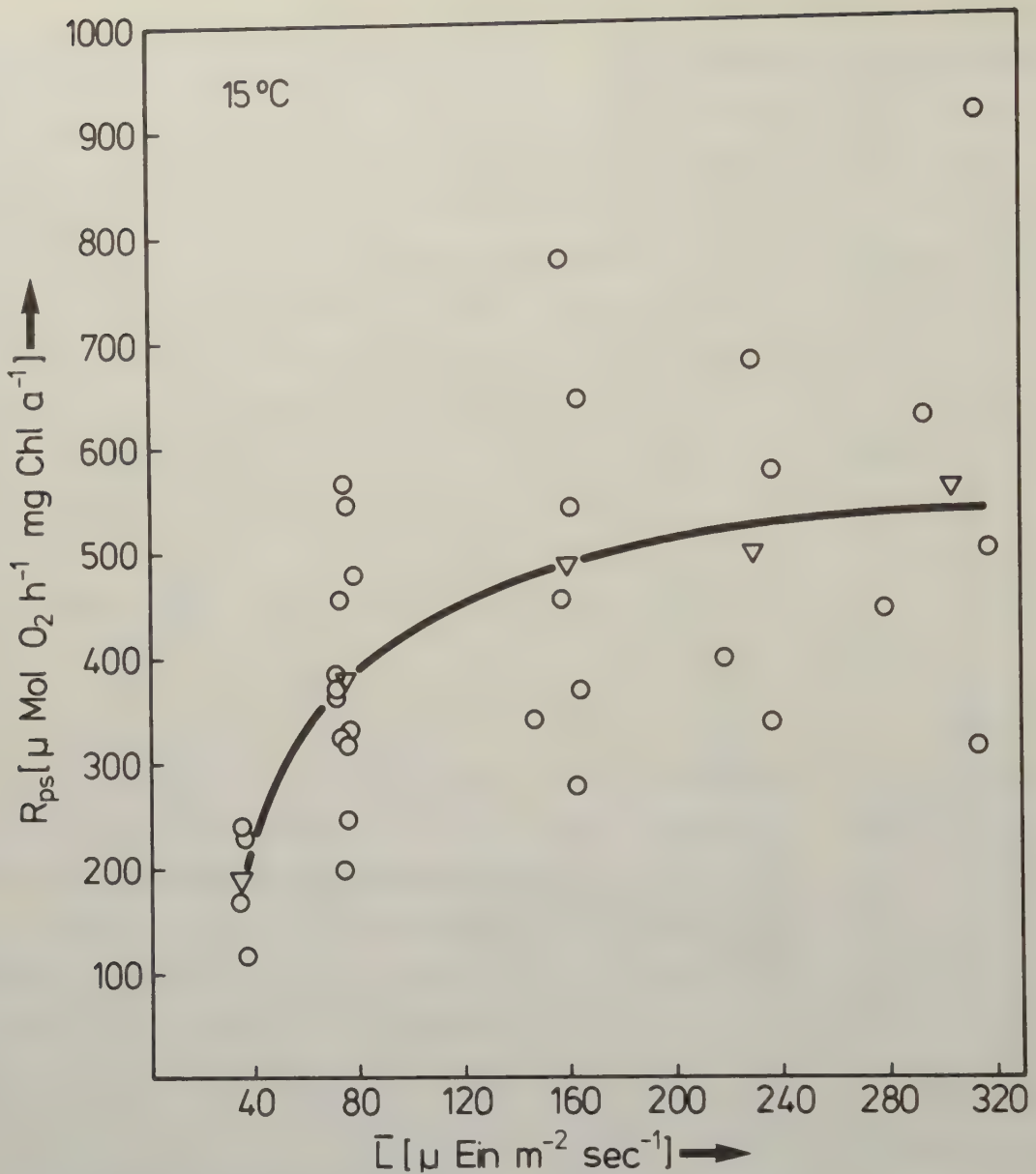


Abb. 20 Netto-Photosyntheserate als Funktion der mittleren Lichtintensität bei 15 °C. Zur Erklärung siehe Abbildung 19.

Eine Bestimmung des Lichtkompensationspunktes ist mit den Kurven der Abbildungen 19 und 20 nicht möglich. *T. rotula* hat aber noch bei sehr geringen Lichtmengen eine positive Sauerstoff-Bilanz. Das zeigt sich z.B. darin, daß bereits bei normaler Raumbelichtung der Kompensationspunkt erreicht ist, d.h. die

Algen produzieren soviel Sauerstoff, wie die gesamte vorhandene Biomasse verbraucht, und die Anzeige der O_2 -Elektrode bleibt konstant. Geringe zusätzliche Lichtmengen können dann schon eine Netto-Sauerstoff-Produktion bewirken (vgl. Versuch 5 in Tabelle 8). Aus diesem Grunde war in den Dunkelphasen auch eine zusätzliche Verdunkelung des Kulturgefäßes notwendig, die in einigen Fällen nicht ausreichte, so daß in den Morgenstunden manchmal bereits kurzzeitig eine konstante Sauerstoff-Anzeige zu beobachten war (vgl. Kap. 3.4.2.2).

3.4.2.7 Einfluß von Lichtintensität und Temperatur auf die Fraktionierung bei der Photosynthese

Die Fraktionierungsfaktoren (α_{ps}) und die für Dunkelatmung korrigierten Fraktionierungsfaktoren (α'_{ps}) sind im einzelnen in den Tabellen 12a bis 12c aufgeführt. Es besteht keine Korrelation zur Sauerstoff-Konzentration. Ebenso ist keine Zuordnung zur Netto-Photosyntheserate möglich. Bei der Berechnung der Werte für α'_{ps} wurde in den Fällen, in denen die Respirationsrate bzw. der Fraktionierungsfaktor bei der Respiration in der nachfolgenden Dunkelphase ein statistisch gesicherter Ausreißer war, ein Mittelwert aus den anderen Raten bzw. Faktoren dieses Experiments eingesetzt. Diese Werte sind in den betreffenden Diagrammen als Quadrate dargestellt. Die Abhängigkeit der Faktoren α_{ps} bzw. α'_{ps} von der mittleren Lichtintensität ist aus den Abbildungen 21 bis 23a ersichtlich.

Abbildung 21 zeigt den Verlauf für 5 °C. Die eingezeichneten Regressionsgeraden wurden unter Nichtberücksichtigung der in Tabelle 12c als 'Ausreißer' bezeichneten Werte berechnet. Zusätzlich wurde bei der Berechnung der Geraden für α_{ps} der dem Wert $\alpha'_{ps} = 1.00023^a$ entsprechende Wert $\alpha_{ps} = 1.00654$ nicht verwendet. Die Geradengleichungen lauten $y = 6.1 \cdot 10^{-6} x + 1.00669$ für α_{ps} ($r=0.914$) und $y = 3.2 \cdot 10^{-6} x + 1.00544$ für α'_{ps} ($r = 0.738$). Bei jeweils 6 Wertepaaren sind die Korrelations- und Regressionskoeffizienten nur im ersten Fall signifikant von Null verschieden.

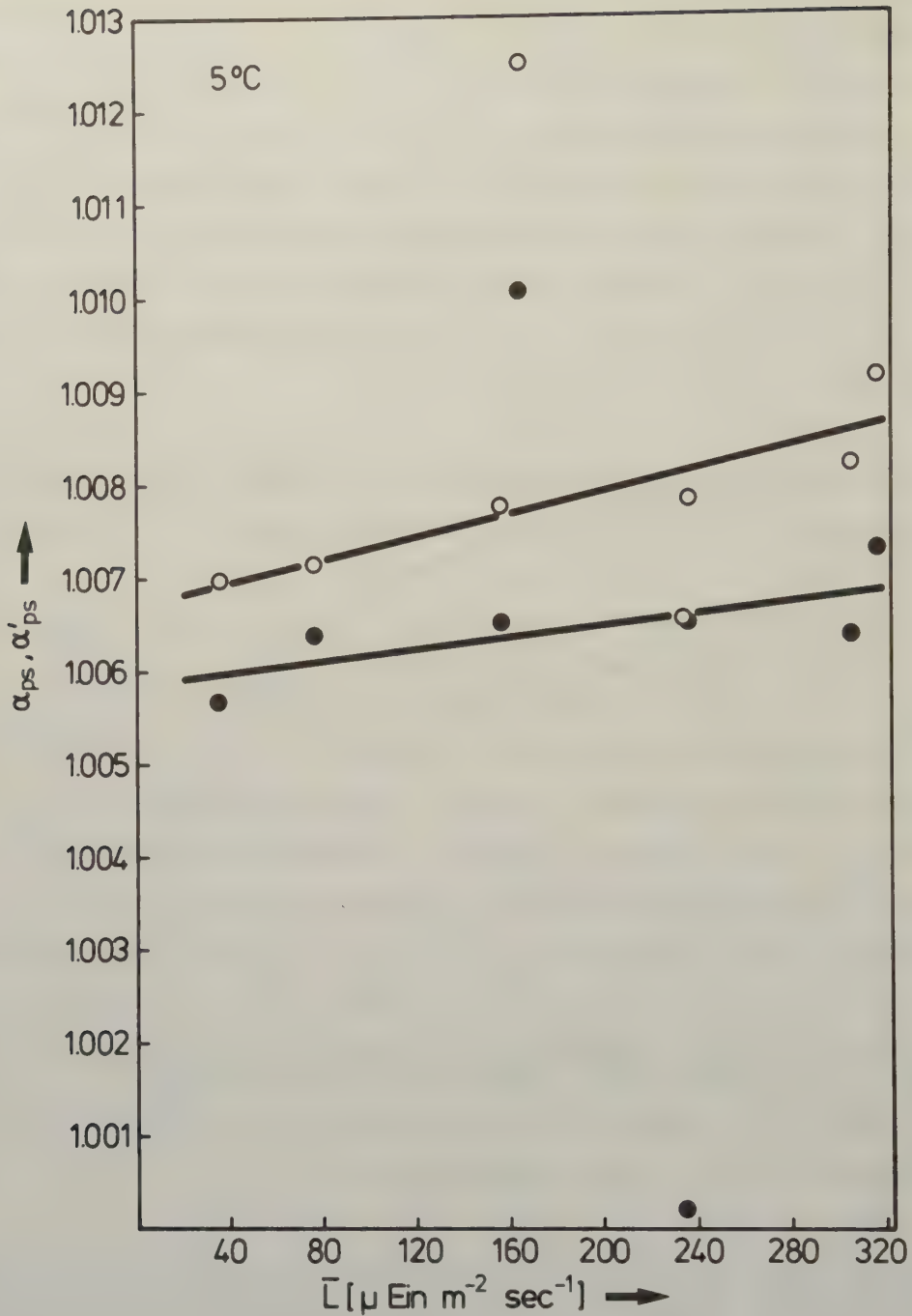


Abb. 21

Fraktionierungsfaktoren α_{ps} und α'_{ps} in Abhängigkeit von der mittleren Lichtintensität in Versuchen bei 5 °C. Die Werte ohne Korrektur für die Dunkelatmung (α_{ps}) sind als offene, solche mit Korrektur (α'_{ps}) als ausgefüllte Punkte dargestellt.

Abbildung 22 stellt die Werte für 10 °C dar. Für die Berechnung der Regressionsgeraden wurde der untypisch hohe Wert für α_{ps} bzw. α'_{ps} bei 36 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ weggelassen. Die Gleichungen der Regressionsgeraden lauten $y = 9.5 \cdot 10^{-6}x + 1.00566$ für α_{ps} ($r = 0.724$) und $y = 7.4 \cdot 10^{-6}x + 1.00434$ für α'_{ps} ($r = 0.524$). Die Korrelationskoeffizienten und Regressionskoeffizienten sind bei $n = 17$ Wertepaaren in beiden Fällen signifikant von Null verschieden.

Aus den Versuchen bei 15 °C sind in Abbildung 23 die Werte für α_{ps} und in Abbildung 23a die Werte α'_{ps} aufgeführt. Die relativ großen Streuungen erschweren die Erstellung einer Ausgleichsgeraden. Die Berechnung erfolgte zum einen ohne die als Dreieck gezeichneten Werte aus Versuchen mit ^{18}O -haltigem Kaliumkarbonat. Zusätzlich wurden noch die statistisch gesicherten Ausreißer ('a') und die stark abweichenden Werte bei 236 bzw. 237 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ weggelassen (in Tabelle 12a mit dem Index 'b' markiert). Diese letzteren Auslassungen haben keinen nennenswerten Einfluß auf die Geradengleichungen, sondern dienen nur zur Verringerung der Streuung. Trotzdem konnte nur bezüglich α_{ps} für den Korrelationskoeffizienten ($r = 0.494$) und den Regressionskoeffizienten ($b = 7.1 \cdot 10^{-6}$) bei $n = 20$ Wertepaaren die Nullhypothese abgelehnt werden. Im Falle von α'_{ps} waren beide Parameter ($r = 0.322$, $b = 3.9 \cdot 10^{-6}$) nicht signifikant von Null verschieden. Die Regressionsgeraden lauten im einzelnen $y = 7.1 \cdot 10^{-6}x + 1.00634$ für α_{ps} und $y = 3.4 \cdot 10^{-6}x + 1.00492$ für α'_{ps} .

Tabelle 13 zeigt zusammenfassend die Werte für $\bar{L}$, R_{ps} , α_{ps} und α'_{ps} aus allen Versuchen. Wenn genügend Meßpunkte vorliegen, ist zum Mittelwert auch die Standardabweichung angegeben. Die Mittelwerte der Fraktionierungsfaktoren nehmen im korrigierten und auch im unkorrigierten Fall mit steigender Beleuchtung zu. Die Standardabweichungen sind allerdings in manchen Fällen noch sehr groß.

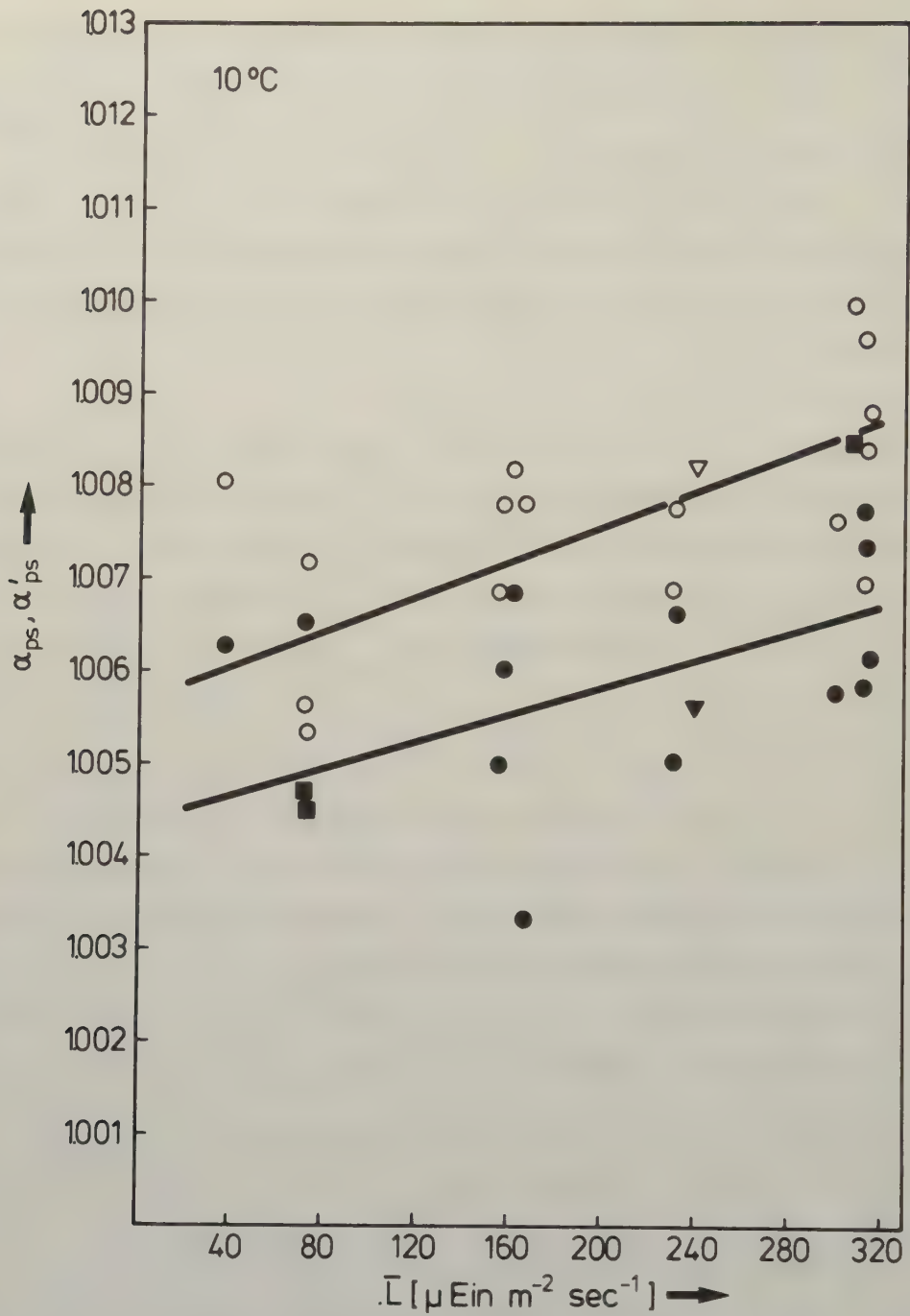


Abb. 22 Fraktionierungsfaktoren α_{ps} und α'_{ps} in Abhängigkeit von der mittleren Lichtintensität bei 10 °C. Zur Erläuterung vergleiche Abbildung 21. Ausgefüllte Quadrate (α'_{ps}) wurden unter Benutzung gemittelter Werte für α_r bzw. R_r berechnet.

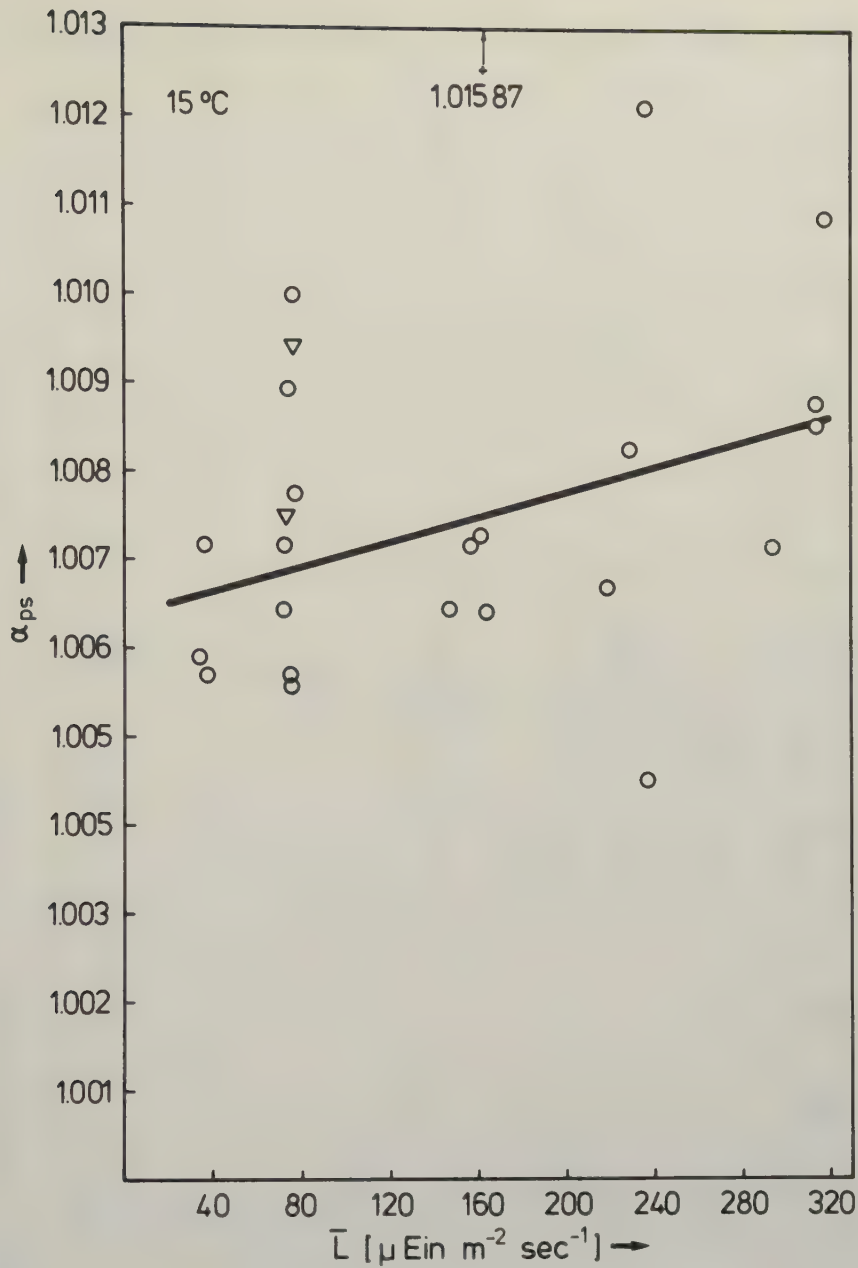


Abb. 23

Fraktionierungsfaktoren α_{ps} ohne Korrektur für Dunkelatmung in Abhängigkeit von der mittleren Lichtintensität bei 15 °C. Dreiecke bezeichnen Meßpunkte aus Versuchen mit an ^{18}O angereichertem K_2CO_3 . Die Lage des Meßpunktes für $\alpha_{ps} = 1.01587$ ist mit dem Pfeil angedeutet.

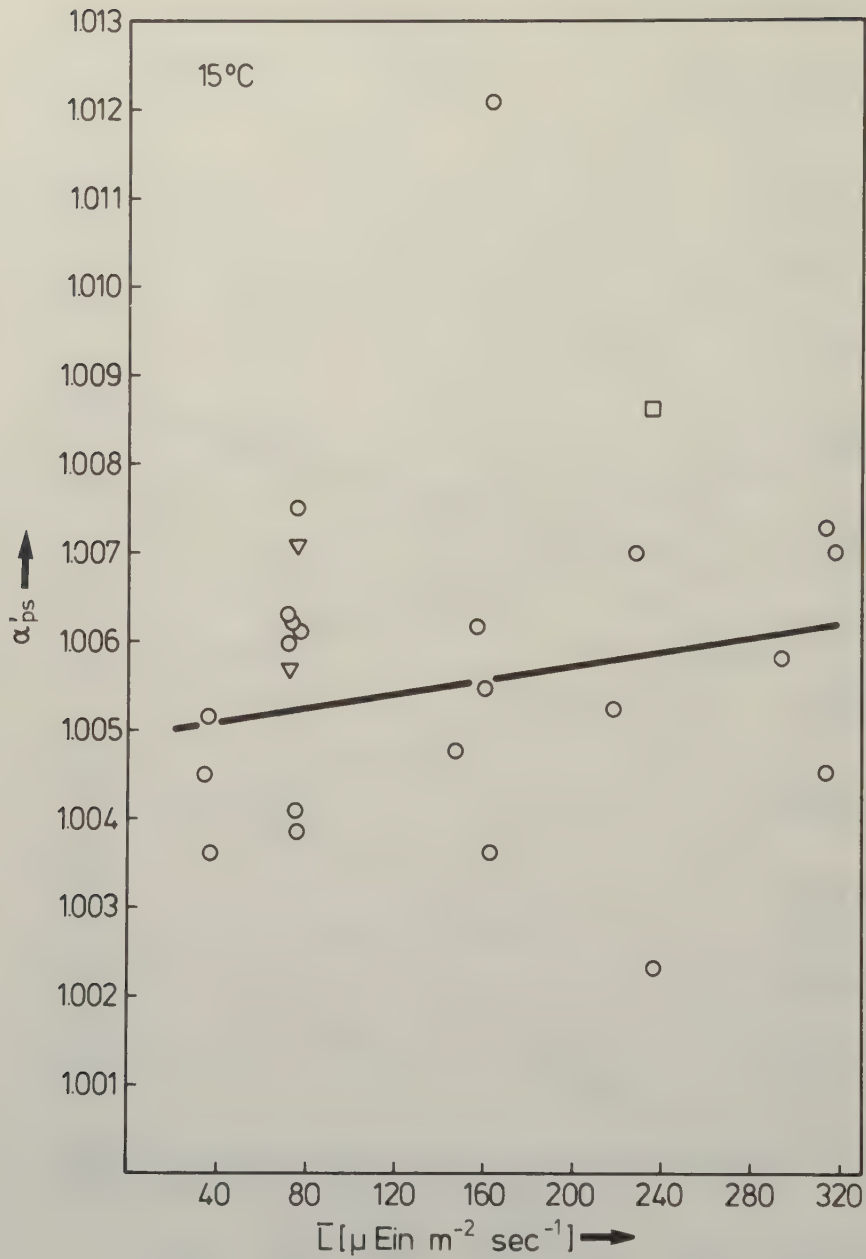


Abb. 23a Fraktionierungsfaktoren α'_{ps} mit Korrektur für Dunkelatmung in Abhängigkeit von der mittleren Lichtintensität bei 15 °C. Legende wie in Abbildung 23. Zur Bedeutung des Quadrats bei 240 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ siehe Abbildung 22.

Tabelle 13

Mittelwert $\pm$ Standardabweichung für $\bar{L}$, R_{ps} , α_{ps} und α'_{ps} aus dem Tabellen 12a bis 12c. Statistisch gesicherte Ausreißer (a) wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt. Die Anzahl der Meßwerte (n) ist in Klammern angegeben.

$^{\circ}C$	$\bar{L}$	R_{ps}	α_{ps}	α'_{ps}
5	37 $\pm$ 1 (2)	226.3 $\pm$ 13.7 (2)	1.00697	1.00568
	77	292.3	1.00715	1.00638
	161 $\pm$ 4 (3)	249.0 $\pm$ 62.0 (3)	1.00773	1.00651
	236 $\pm$ 1 (2)	200.4 $\pm$ 79.1 (2)	1.00718 $\pm$ 0.00091 (2)	1.00650
	312 $\pm$ 8 (2)	273.3 $\pm$ 92.0 (2)	1.00867 $\pm$ 0.00067 (2)	1.00683 $\pm$ 0.00066 (2)
10	36 $\pm$ 2 (4)	213.7 $\pm$ 59.2 (4)	1.00804	1.00626
	73 $\pm$ 1 (3)	411.2 $\pm$ 144.8 (3)	1.00604 $\pm$ 0.00098 (3)	1.00522 $\pm$ 0.00112 (3)
	162 $\pm$ 5 (5)	514.7 $\pm$ 74.6 (5)	1.00765 $\pm$ 0.00056 (4)	1.00528 $\pm$ 0.00152 (4)
	235 $\pm$ 6 (5)	545.8 $\pm$ 170.6 (5)	1.00776 $\pm$ 0.00063 (4)	1.00570 $\pm$ 0.00066 (4)
	311 $\pm$ 6 (6)	401.1 $\pm$ 104.0 (6)	1.00855 $\pm$ 0.00115 (6)	1.00687 $\pm$ 0.00112 (6)
15	36 $\pm$ 2 (4)	188.6 $\pm$ 56.8 (4)	1.00626 $\pm$ 0.00080 (3)	1.00442 $\pm$ 0.00078 (3)
	75 $\pm$ 2 (12)	381.5 $\pm$ 112.4 (12)	1.00737 $\pm$ 0.00166 (7)	1.00571 $\pm$ 0.00130 (7)
	159 $\pm$ 6 (7)	485.8 $\pm$ 178.9 (7)	1.00682 $\pm$ 0.00046 (4)	1.00500 $\pm$ 0.00108 (4)
	230 $\pm$ 8 (4)	496.6 $\pm$ 158.0 (4)	1.00790 $\pm$ 0.00322 (4)	1.00578 $\pm$ 0.00269 (4)
	304 $\pm$ 17 (5)	558.8 $\pm$ 227.1 (5)	1.00884 $\pm$ 0.00155 (4)	1.00614 $\pm$ 0.00126 (4)

3.4.2.8 Fraktionierung während der Photosynthese in Gegenwart von an ^{18}O angereichertem Kaliumkarbonat

In zwei Versuchen bei 15°C wurde dem Medium zu Beginn der Dunkelphase eine kleine Menge K_2CO_3 mit einem Anteil von 11.21 Atom-% ^{18}O zugegeben. Die Mengen betrugen 103.7 mg in Versuch 25 und 108.2 mg in Versuch 26. Zu Beginn der nächsten Lichtphase wurde zusätzlich die gesamte anorganische C-Fraktion auf ihren ^{18}O -Gehalt untersucht. Statt theoretisch zu erwartenden Anreicherungen von 5389 bzw. 5636 ‰ gegenüber SMOW wurden nur Werte von 10.6 bzw. 24.9 ‰ gefunden. Das deutet auf einen raschen und gründlichen Austausch der ^{18}O -Atome zwischen Wasser und CO_2 gemäß Gleichung (5) hin. Wie zu erwarten, liegen auch die Fraktionierungsfaktoren aus den beiden folgenden Lichtphasen (Beleuchtung 76 bzw. 73 $\mu\text{Ein m}^{-2} \text{sec}^{-1}$) mit Werten von 1.00940 und 1.00751 für α_{ps} bzw. 1.00707 und 1.00566 für α'_{ps} in dem Bereich, der auch ohne Zugabe von angereichertem Karbonat überstrichen wird. Diese Fraktionierungsfaktoren wurden unter Berücksichtigung des durch den Austausch erhöhten ^{18}O -Gehalts im Kulturmedium berechnet. Über eine Sauerstoff-Freisetzung aus dem Karbonat bzw. Bikarbonat kann wegen dem oben erwähnten Austausch keine Aussage gemacht werden.

3.4.2.9 Abschätzung der Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit bei der Berechnung der spezifischen Gasumsatzraten wird durch die Fehler bei der Sauerstoff-Messung und der Bestimmung der vorhandenen Chlorophyll-Menge festgelegt. Der erstere ist vermutlich nach Korrektur gemäß Formel (17) nicht größer als $0.1 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ oder bezogen auf das gesamte Kulturvolumen 263 μl bzw. ca. 11 $\mu\text{Mol O}_2$. Ungenauigkeiten in der Bestimmung der Anfangskonzentration sind in diesem Fall ohne Belang, da die Raten aus im Abstand von einer Stunde errechneten Einzelwerten gemittelt wurden. Je nach Phasenlänge beträgt die Reproduzierbarkeit des Gasumsatzes ca. $1 \mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1}$. Der Fehler bei der Chlorophyll a - Bestimmung wurde auf $\pm 5\%$ geschätzt. Eine zusätzliche Ungenauigkeit kann noch dadurch verursacht werden, daß die Chlorophyll-Bestimmung nicht streng

exponentiell mit der aus Anfangs- und Endwert bestimmten Rate erfolgt. Unter Verwendung von Näherungsformeln für die Fehlerfortpflanzung wurde die Unsicherheit bei der Bestimmung einer spezifischen Gasumsatzrate auf maximal $\pm 12\%$ geschätzt.

Bei der Berechnung der Fraktionierungsfaktoren sind die Fehler bei der Bestimmung der Sauerstoff-Konzentration am Beginn und am Ende einer Phase und bei der Messung des Isotopenverhältnisses im produzierten Gas bzw. in der Lichtphase zusätzlich im Kulturmedium ausschlaggebend für die Gesamt-Reproduzierbarkeit. Der Fehler in der Sauerstoff-Konzentrationsbestimmung ist vor allem bei geringen Gasumsätzen (Dunkelphase) bedeutsam. Unterschiede von $\pm 0.1 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bewirken hier bereits Verschiebungen der α_r -Werte um ± 0.003 . Die Ungenauigkeit bei der Bestimmung des Isotopenverhältnisses (0.5 ‰ gemäß Kapitel 3.3.2) führt zu Abweichungen gleicher Größe. Die Fraktionierungsfaktoren während der Dunkelatmung sind mit einem Fehler von maximal ± 0.006 genau gemessen.

Für die Lichtphase haben Schwankungen in der Sauerstoff-Messung um $0.1 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$ bzw. 0.5 ‰ in der Isotopenverhältnismessung eine Ungenauigkeit im X_p -Wert von $2 \cdot 10^{-6}$ zur Folge. Die Bestimmung des $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ -Verhältnisses im Wasser ist laut Kapitel 3.3.4 innerhalb eines Versuches etwa auf $\pm 0.2\%$ genau. Dieser Beitrag zum Gesamtfehler liegt innerhalb der oben genannten Fehlergrenzen. Die Fraktionierungsfaktoren während der Photosynthese (α_{ps}) sind mit einem Fehler von maximal ± 0.001 behaftet. Diese Fehlergrenzen geben jeweils den durch die dem Verfahren anhaftenden Ungenauigkeiten bedingten maximal möglichen Fehler an. Die tatsächlichen apparativbedingten Fehler dürften oft geringer sein, wie auch an den Standardabweichungen der Meßwerte abzulesen ist, welche noch zusätzlich durch biologisch verursachte Schwankungen beeinflusst werden.

Die Ungenauigkeiten, die durch die kurzen undefinierten Zeitspannen zwischen zwei Phasen (vgl. Seite 66) eingebracht werden, sind sicher in dem oben erwähnten Bereich miterfaßt. Eine

Undichtigkeit des Kulturgefäßes kann ebenfalls mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

4. Diskussion

Als einen für ökologische Fragestellungen bedeutsamen Parameter untersuchte SCHÖNE (1972, 1977) die Vermehrungsrate von *T. rotula* an Schalenkulturen in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren. Die Beleuchtungsstärke wurde allerdings in Lux gemessen. Eine Umrechnung der in dieser Arbeit ermittelten Lichtintensitäten ist nur als Näherung zulässig, da sie vom Lampenspektrum abhängt. Nach ZELITCH (1971) gilt für Tageslicht der Umrechnungsfaktor $1 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1} = 72 \text{ Lux}$, welcher recht gut mit dem Wert $1 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{ sec}^{-1} = 79 \text{ Lux}$ für Weißlicht-Leuchtstoffröhren (ALETSEE, pers. Mitteilung) übereinstimmt. Die Beleuchtungsintensitäten betragen also etwa für die Schalen im Kühlschrank 1500 Lux, für die KNIESE-Kulturröhren 12000 Lux und 3000 bis 24000 Lux in den Versuchen. Ein Vergleich der Verdopplungszeiten mit den Resultaten aus SCHÖNE (1972) zeigt nur für die Schalenkulturen gute Übereinstimmung. Ab 6000 Lux kann für *T. rotula* bereits Lichtsättigung bzgl. der Vermehrungsrate angenommen werden (SCHÖNE, 1977). Die minimalen Verdopplungszeiten von etwa 9 Stunden wurden in den vorliegenden Versuchen jedoch nicht erreicht. Da aber in den Kulturröhren und -gefäßen nur wenige Vermehrungsraten durch Zellzählungen bestimmt wurden, sind die Werte statistisch ungesichert. Die Verdopplungszeiten aus Chlorophyll-Messungen sind aufgrund der Veränderung im Pigmentgehalt pro Zelle (vgl. Kap. 3.1.2) nicht direkt vergleichbar. Zusätzlich können auch Faktoren wie die Länge der Photoperiode (SCHÖNE, 1977) oder die speziellen Bedingungen in den Versuchen für die Unterschiede verantwortlich sein. Die gelegentlich zu beobachtende Zunahme von Chlorophyll a in der Dunkelphase ist an sich nicht erklärbar. Ein ähnlicher Befund wird aber von ANDERSON (1976) für *Amphora coffaeiformis* berichtet.

Da eine modellmäßige Überprüfung globaler Umsätze durchgeführt werden soll, erhebt sich die Frage, inwieweit das System dem Freiland entspricht. Die maximalen Chlorophyll-Konzentrationen, die in Freiland-Untersuchungen gefunden wurden, reichen von

$0.23 \mu\text{g l}^{-1}$ im Zentral-Pazifik (EPPLEY et al., 1973) bis maximal $100 \mu\text{g l}^{-1}$ (TAKAHASHI et al., 1971) in japanischen Küstengewässern. Tabelle 14 gibt einen Überblick über einige Werte aus Literaturdaten. Als repräsentativer Mittelwert dürfte wohl $10 - 15 \mu\text{g l}^{-1}$ (BERMAN and EPPLEY, 1974) anzusehen sein. Diese Zahl ist um den Faktor 5 bis 10 kleiner als die mittlere Konzentration in den beschriebenen Versuchen. Der Wert von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ entspricht etwa dem Maximalwert im Kulturgefäß ohne Gasphase. Zellkonzentrationen von ca. 12000 Zellen pro Milliliter wurden auch im Freiland gefunden (DURBIN et al., 1975; Van VALKENBURG and FLEMER, 1974), obwohl die Zellzahl allein nichts über die Beteiligung am Umsatz ausdrückt.

Der Beitrag des sog. Nanoplanktons (Zellen $<20 \mu\text{m}$) zur Gesamtproduktivität ist umstritten. Zahlenmäßige Überlegenheit der Nanoplankter bedeutet nicht unbedingt, daß sie auch den Hauptteil der Biomasse stellen (ZEITSCHSEL, 1970). Andererseits kann aber gerade die große Gesamtoberfläche kleinster Organismen einen sehr großen Anteil am Stoffumsatz bedingen. So schätzen Van VALKENBURG und FLEMER (1974) den Beitrag der Planktonfraktion $<10 \mu\text{m}$ im Mittel auf 65 bis 75 % der ^{14}C -Fixierung und 81 bis 88 % der Chlorophyll-Konzentration. Die Ausschlußgrenze $<10 \mu\text{m}$ wurde gewählt, um die kettenbildende Diatomee *Skeletonema costatum* auszuschließen. Nach HOBSON et al. (1973) beträgt der Anteil der Microflagellaten an der gesamten Phytoplankton-Kohlenstoff-Fraktion 8 bis 71 %. In einem zweijährigen Untersuchungsprogramm fanden MCCARTHY et al. (1974), daß die Fraktion $<35 \mu\text{m}$ für rund 90 % der Primärproduktivität verantwortlich ist. Entsprechend DURBIN et al. (1975) haben Algen $<20 \mu\text{m}$ im Jahresmittel einen Anteil von 47 % an der Biomasse (als Chlorophyll a) und 51 % an der Gesamtproduktivität. Die Autoren beschreiben ähnlich wie MALONE (1977) eine Dominanz der Diatomeen in der Frühjahrsblüte, während im Sommer das Nanoplankton überwiegt. Nach MALONE (1977) betragen die Anteile des Nanoplanktons an der Produktion im Sommer 85 % und im Winter 26 %. Einer neueren Untersuchung von THOMAS et al. (1978) zufolge, sind Diatomeen in einem höheren Maße als es ihr Anteil am partikulären Kohlenstoffgehalt vermuten läßt, an der Primärproduktion

Tabelle 14 Übersicht über spezifische Photosyntheseraten R_{ps} ($\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$), Chlorophyll-Konzentrationen cChl ($\mu\text{g l}^{-1}$) und das R/P-Verhältnis (%) aus Literaturdaten bzw. aus eigenen Versuchen.

R_{ps}	cChl	R/P	Bemerkungen und Referenz
135.4 bis	656.3	6.30 bis 25.50	- Wattenmeer, CADÉE und HEGEMAN, 1974
31.3 bis	604.2	7.00 bis 18.70	- Chesapeake Bay, MCCARTHY et al., 1974
68.0 bis	868.0	0.04 bis 0.23	- Nord-Pazifik, EPPLEY et al., 1973
260.4 bis	729.2	0.00 bis 26.00	- Knight Inlet, FALKOWSKI und STONE, 1975
99.0 bis	1464.0	1.00 bis 12.00	- Narragansett Bay, DURBIN et al., 1975
162.5 bis	218.8	0.50 bis 100.00	- Sagami Bay und Go-no-ike, TAKAHASHI et al., 1971
100.0 bis	938.0	1.00 bis 27.60	- Long Island, MANDELLI et al., 1970
156.2 bis	3700.0	0.50 bis 20.00	- Hudson Estuary and New York Bight, MALONE, 1977
-	-	9.4 bis 92.3	- Phytoplankton-Kulturen, FALKOWSKI und OWENS, 1978
-	-	13.4 bis 74.6	- NW-Afrika und Peru, SMITH, 1977
-	-	9.7 bis 76.9	- Phytoplankton-Kulturen, BURRIS, 1977
-	-	32.0 bis 83.0	- Nord-Pazifik, EPPLEY und SHARP, 1975
167.9 bis	1678.9	5.8 bis 90.9	- Phytoplankton-Kulturen, HUMPHREY, 1975
-	-	5.6 bis 83.3	- Algenkulturen, BROWN und TREGUNNA, 1967
117.6 bis	911.9	5.6 bis 23.5	- Versuche ohne Gasphase
168.3 bis	779.6	7.10 bis 239.00	- Versuche mit Gasphase

beteiligt.

Da marine Diatomeen sicherlich ungeachtet einer möglichen Dominanz unter besonderen Bedingungen im globalen Jahresmittel zu mindestens 50 % an der gesamten Sauerstoff-Produktion beteiligt sind, kann man sie und damit auch *T. rotula*, als repräsentative Vertreter der marinen Sauerstoff-Produzenten ansehen. Zum anderen ist über die Kultivation sogenannter Nanoplankter noch wenig bekannt. Somit ist auch im Hinblick auf die besonderen experimentellen Bedingungen der Einsatz einer zentrischen Diatomee für erste Untersuchungen der Verhältnisse gerechtfertigt, zumal VENRICK et al. (1977) vermuten, daß Diatomeen im Gegensatz zu Nanoplanktern zur Kultivation in abgeschlossenen Volumina besser geeignet sind. Eine Entscheidung darüber, welche Spezies global den meisten Sauerstoff produziert, ist nach dem derzeitigen Kenntnisstand ohnehin nicht möglich.

Obwohl in der Literatur oft von 'axenischen' Kulturen berichtet wird, sind Zweifel an der Vollständigkeit des Begriffs zumindest für marine Diatomeen angebracht (METZNER, SCHÖNE, pers. Mitteilung). Da außerdem auch im Freiland stets eine Vergesellschaftung mit Bakterien zu erwarten ist, wurde gar nicht erst der Versuch gemacht, axenische Kulturen zu betreiben, zumal z.B. UKELES und BISHOP (1975) über gesteigertes Wachstum von marinen Algen in Gegenwart von Bakterien berichten. Folgende Befunde deuten außerdem auf eine geringe Beteiligung der Bakterien am gesamten Gasstoffwechsel hin:

1. Die Werte für das R/P-Verhältnis sind, wie Tabelle 14 zeigt, relativ gering, verglichen mit den Daten anderer Autoren, die z.T. (FALKOWSKI und OWENS, 1978) mit axenischen Kulturen arbeiten. Nach STRICKLAND (1960) zeigen intakte Zellen in Kulturen und vermutlich auch im Freiland ein R/P-Verhältnis von ungefähr 5 bis 15 %.
2. Die positive Korrelation von Dunkelatmungsrate und Lichtintensität in der vorhergehenden Lichtphase bei 15 °C deutet darauf hin, daß das Ausmaß des Gasstoffwechsels vor

allem durch die Algen bestimmt wird. Ein Einfluß der Beleuchtung auf den Lichtkompensationspunkt und damit wohl eine Steigerung der Respirationsrate nach starkem Lichtge-
nuß wird ebenfalls von FALKOWSKI und OWENS (1978) berichtet, aber allerdings auf Verschiebung der spektralen Zusammensetzung der Lichtquelle zurückgeführt. Eine Erhöhung der Respirationsrate nach intensiver Beleuchtung wird aber auch von VERDUIN (1957) beschrieben.

3. Die Abnahme der Respirationsrate mit zunehmendem Kulturalter ist vermutlich physiologisch bedingt (KENNER und AHMED, 1975), da eine Erhöhung der Sauerstoff-Konzentration im Medium nach GESSNER und PANNIER (1958) an sich eine Steigerung der Respirationsrate bewirken sollte. Weitere Beispiele für verringerte Atmungsintensität alternder Zellen sind bei STRICKLAND (1960) aufgeführt. Die Atmung der Algen ist für den gesamten Gasumsatz bei 15 °C demnach wesentlich bedeutender als der mikrobielle Anteil, obwohl dieser wahrscheinlich mit zunehmendem Kulturalter ansteigt.

Zusammenfassend entspricht das vorliegende System im großen und ganzen den Freilandbedingungen. Um gutes Wachstum zu ermöglichen, wurden lediglich die Nährstoff-Konzentrationen gegenüber dem Ozean erhöht. Die dadurch im Vergleich ebenfalls gesteigerte Biomasse-Konzentration ist notwendig, um vor allem in den Dunkelphasen ausreichend große Gasumsätze zu gewährleisten. Der Anteil der mikrobiellen Begleitflora ist - wie oben angedeutet - bezüglich des gesamten Gasumsatzes begrenzt. Die Werte für die Photosyntheserate liegen in dem Bereich, der auch von anderen Autoren aus Freilandmessungen oder Laborversuchen berichtet wird. In Tabelle 14 sind die Chlorophyll-Konzentrationen, die Netto-Photosyntheseraten und die Werte für das R/P-Verhältnis aus Literaturdaten und der vorliegenden Arbeit zusammengestellt, um einen Vergleich zu ermöglichen. Die Literaturdaten stellen eine Auswahl neuerer Arbeiten dar.

Die in Tabelle 14 aufgeführten Photosyntheseraten mußten z.T. in die Einheit $\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$ umgerechnet werden.

Dabei wurden ein molarer photosynthetischer Quotient von 1.25 (RYTHER, 1956) und ein Molekulargewicht von 893.43 (RAUEN, 1964) eingesetzt. Da die Raten unter verschiedenen Bedingungen gewonnen wurden, sind sie nur bedingt vergleichbar. Es zeigt sich aber, daß die Sauerstoff-Produktion in der vorliegenden Arbeit recht gut den Werten aus dem Freiland entspricht. Der etwas ungewöhnliche Verlauf der Kurve in Abbildung 19 wurde in ähnlicher Form in Kulturen von *Skeletonema costatum* (CURL und McLEOD, 1961) als Folge unterschiedlicher Temperaturen und in Phytoplanktonproben als Resultat unterschiedlicher Tiefe (RYTHER und MENZEL, 1959; MANDELLI et al., 1970; TAKAHASHI et al., 1971; EPPLEY et al., 1973) gefunden. Die starke Streuung der Werte gleicher Lichtintensität kann durch vielfältige Ursachen bedingt sein. Nach McCARTHY et al. (1974) und TAKAHASHI et al. (1971) kann schon die Filtration einen Einfluß auf die ^{14}C -Assimilation von Phytoplanktern ausüben. Gemäß HUMPHREY (1975) haben der pH-Wert und die Zellkonzentration einen Einfluß. GRIFFITHS (1973) fand eine ausgeprägte Abnahme der Photosyntheserate um bis zu 75 % mit zunehmendem Kulturalter in Batch-Kulturen von *Phaeodactylum tricornutum*, welche er auf enzymatische Veränderungen zurückführt. MORRIS und GLOVER (1974) fanden bei verschiedenen Planktern ebenfalls eine deutliche Abhängigkeit der Photosyntheserate vom Kulturalter selbst bei Verwendung von gepuffertem Kulturmedium. Die Größe der Reduktion kann über 50 % betragen und ist temperaturabhängig. Dabei hat nach BEARDALL und MORRIS (1976) noch zusätzlich die Beleuchtung bei der Anzucht einen Einfluß. CURL und SMALL (1965) führen noch zusätzlich Ursachen für die Variabilität der Photosyntheserate im marinen Phytoplankton auf.

Eine wesentliche Beeinflussung der apparenten Photosyntheserate kann durch Photorespiration verursacht werden. Dieses in terrestrischen Arten gründlich untersuchte Phänomen (ZELITCH, 1971) wurde in marinen Macrophyten (BURRIS, 1977; HOUGH, 1976; TOLBERT und GAREY, 1976; DOWNTON et al., 1976) und Phytoplanktern (BURRIS, 1977; GRIFFITHS, 1976; BLACK et al., 1976; POPE, 1975; BEARDALL und MORRIS, 1975) bestätigt. Auf eine erhöhte Sauerstoff-Aufnahme durch Algen bei starken Lichtintensitäten

weisen auch HOCH et al. (1964), BUNT (1969) und BUNT und HEEB (1971) nach Untersuchungen an Süßwasserarten hin. Eine gute Übersicht über Physiologie und Biochemie der Photorespiration bei Algen gibt TOLBERT (1974). PAUL und VOLCANI (1975) weisen auf biochemische Unterschiede der Photorespiration zwischen Diatomeen und höheren Pflanzen hin. Die Photorespiration wird durch starke Lichtintensitäten und hohe Sauerstoff-Konzentrationen gefördert und durch große Bicarbonat-Konzentrationen gehemmt (BEARDALL und MORRIS, 1975; POPE, 1975). Der von BURRIS (1977) erwähnte Ausstoß von CO_2 bzw. die beschleunigte Aufnahme von O_2 zu Beginn der Dunkelphase konnte im vorliegenden Versuchsaufbau nicht nachgewiesen werden. BEARDALL und MORRIS (1975) konnten außerdem zeigen, daß ein Schlüsselenzym, die Ribulose 1,5-Biphosphat-Carboxylase, ebenfalls durch hohe Sauerstoff-Konzentrationen gehemmt wird. Dieses Enzym wirkt auch als Oxygenase und hat im Bereich von pH 9,2 Maxima der Oxygenase-Aktivität und der Carboxylase-Hemmung. Somit ergibt sich zusätzlich noch eine pH-Abhängigkeit. Da zur Aufnahme der Kurven in Abbildung 18 die Lichtintensität konstant gehalten wurde, ist die gefundene Verminderung der Raten vermutlich durch die Konzentrationen an Sauerstoff und Bicarbonat und durch den pH-Wert bedingt. Es handelt sich also mit großer Wahrscheinlichkeit um Photorespiration. Eine Hemmung im Phytoplankton um durchschnittlich 60 % beobachtete auch GRIFFITHS (1976) bei Konzentrationen von 12 bis 15 ml $\text{O}_2 \text{ l}^{-1}$. Reduzierungen um maximal 75 % wurden von BEARDALL und MORRIS (1975) für *P. tricornutum* gefunden.

Untersuchungen zur Isotopenfraktionierung bei der Photosynthese liegen zahlreich vor. Eine Übersicht gibt METZNER (1975). Neuere Resultate werden außerdem noch von STEMLER und RADMER (1975) und STEVENS et al. (1975) berichtet. Messungen an marinen Phytoplanktern wurden bisher aber nur von VINOGRADOV et al. (1959) vorgenommen. Dabei fanden die Autoren in Mischkulturen von *Chaetoceros curvisetus*, *C. lauderi* und *Nitzschia closterium* einerseits und *Skeletonema costatum* und *C. curvisetus* andererseits Anreicherungen von 3 bzw. 6 ‰. Unter Berücksichtigung einer Respirationsrate von 15 % der Photosyntheserate und einem Fraktionierungsfaktor von 1.018 konnten die Autoren die Anrei-

cherung eliminieren. Bei der Respiration im marinen System fand KROOPNICK (1975) einen Anreicherungsfaktor von 1.021. SCHLESER (1977) untersuchte die Isotopenverschiebung bei der mikrobiellen Respiration an *Escherichia coli* und *Torulopsis utilis*. Dabei nahm der Fraktionierungsfaktor Werte von 1.010 bis 1.045 an. Der globale terrestrische Respirationsbeitrag wurde von ihm auf 17.6 ‰ geschätzt. Da die Untersuchungen in wohldefinierten kontinuierlichen Kulturen durchgeführt wurden, ist ein direkter Vergleich mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Daher ist es auch erklärlich, daß die für *T. rotula* gefundenen Fraktionierungsfaktoren von 1.01402 bis 1.03727 zwar in dem erwähnten Intervall liegen, daß aber die von SCHLESER beschriebenen Abhängigkeiten der Fraktionierung von der Temperatur, der Atmungsrate und der Sauerstoff-Konzentration nicht gefunden wurden. Die in Kulturen von *T. rotula* aufgetretene Abhängigkeit des respiratorischen Fraktionierungsfaktors von der Sauerstoff-Konzentration (Abb. 16 und 17) zeigt sogar einen gegenüber den Ergebnissen von SCHLESER entgegengesetzten Verlauf, welcher wohl hauptsächlich durch physiologische Veränderung der Algen im Kulturverlauf verursacht wird und deshalb nicht vergleichbar ist. Diese Tatsache mag auch dazu beigetragen haben, eine evtl. Temperaturabhängigkeit zu überdecken. Der mittlere Fraktionierungsfaktor für die Respiration aus allen Werten beträgt 1.02557 und liegt mit 95 ‰iger Wahrscheinlichkeit im Intervall $1.02395 \leq \bar{\alpha}_r \leq 1.02719$. Er ist also deutlich größer als der Wert für die globale terrestrische Respiration ($\alpha = 1.017$) und liegt auch über den bisher bekannten Werten für das marine Milieu ($\alpha = 1.021$). Die gefundenen Anreicherungen während der Photosynthese sind von der Größenordnung wie sie auch andere Autoren berichten (METZNER, 1975), wohingegen STEVENS et al. (1975) sogar leichte Abreicherungen fanden. Unter der Annahme, daß der produzierte Sauerstoff im Isotopenverhältnis dem Zellwasser und damit dem Medium (STASCHEWSKI, 1970) entspricht, wurden diese Anreicherungen bislang durch 'unkontrollierte Respiration' erklärt. KUTYURIN (1969) berichtet von einer deutlichen Reduktion des Fraktionierungsfaktors bei der Photosynthese in Versuchen an *Chlorella pyrenoidosa* und *Elodea canadensis* um maximal 11 ‰ mit zuneh-

mender Lichtintensität. Bei Beleuchtung mit $\geq 50\,000$ Lux ist eine Fraktionierung nicht mehr festzustellen. Diese Erklärung kann aber für die in dieser Arbeit ermittelten Anreicherungen nicht zutreffen. Zum einen ist die Hemmung der Dunkelatmung durch Belichtung umstritten (vgl. Kap. 3.4.2.2). Möglicherweise tritt im Licht eine andere Art von Sauerstoff-Aufnahme zusätzlich auf. Zum anderen zeigt die unter der Annahme einer konstanten Dunkelatmung vollzogene mathematische Simulation der Sauerstoff-Produktion, daß die Beibehaltung der Dunkelatmung in der Lichtphase zwar für einen kleinen Teil aber nicht für das gesamte Ausmaß der Anreicherung verantwortlich ist. Im Gegensatz zu KUTYURIN (1969) ergibt sich eine Zunahme des Fraktionierungsfaktors mit zunehmender Lichtintensität, die zumindest teilweise sowohl für den korrigierten als auch für den unkorrigierten Fall statistisch gesichert ist. Der über alle Temperaturen und Lichtintensitäten gemittelte Wert für den Fraktionierungsfaktor α_{ps} beträgt 1.0076 und liegt mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit im Intervall $1.00702 \leq \bar{\alpha}_{ps} \leq 1.00818$. Für die nach dem in Kapitel 3.4.2.2 geschilderten Verfahren korrigierten Werte lautet der entsprechende Mittelwert 1.0058 und das Intervall hat die Grenzen 1.00527 bis 1.00633. Diese Anreicherung ist also nicht durch die Annahme einer im Hellen weiterlaufenden Dunkelatmung zu erklären.

Jeweils die ersten Werte des Isotopenverhältnisses des Sauerstoffs in den Versuchen mit Gasphase sollten nur durch die Fraktionierung bei der Photosynthese beeinflusst und deshalb mit den α_{ps} -Werten aus Versuchen ohne Gasphase vergleichbar sein. Wie Tabelle 8 zeigt, stimmen zumindest die Daten aus den drei Versuchen bei $322\,\mu\text{Ein m}^{-2}\text{ sec}^{-1}$ (Versuche 4, 5 und 10) und aus Versuch 11 bei $245\,\mu\text{Ein m}^{-2}\text{ sec}^{-1}$ mit einem Mittelwert von 1.00766 ± 0.0009 bzw. dem Einzelwert 1.00764 sehr gut mit Resultaten entsprechender Lichtintensität in den Tabellen 12a und 13 überein. Dieser Befund ist als Indiz dafür zu deuten, daß sowohl die unterschiedlichen Versuchsanordnungen als auch die beiden verschiedenen Algenstämme bezüglich der untersuchten Fragestellung im wesentlichen gleichwertig sind.

Mit den obengenannten Fraktionierungsfaktoren wurde anschließend eine erneute Berechnung des in Abbildung 24 dargestellten Kompartimentmodells für den Sauerstoff in der Atmosphäre und in der sogenannten 90 %-Schicht aus WAGENER (1974) durchgeführt.

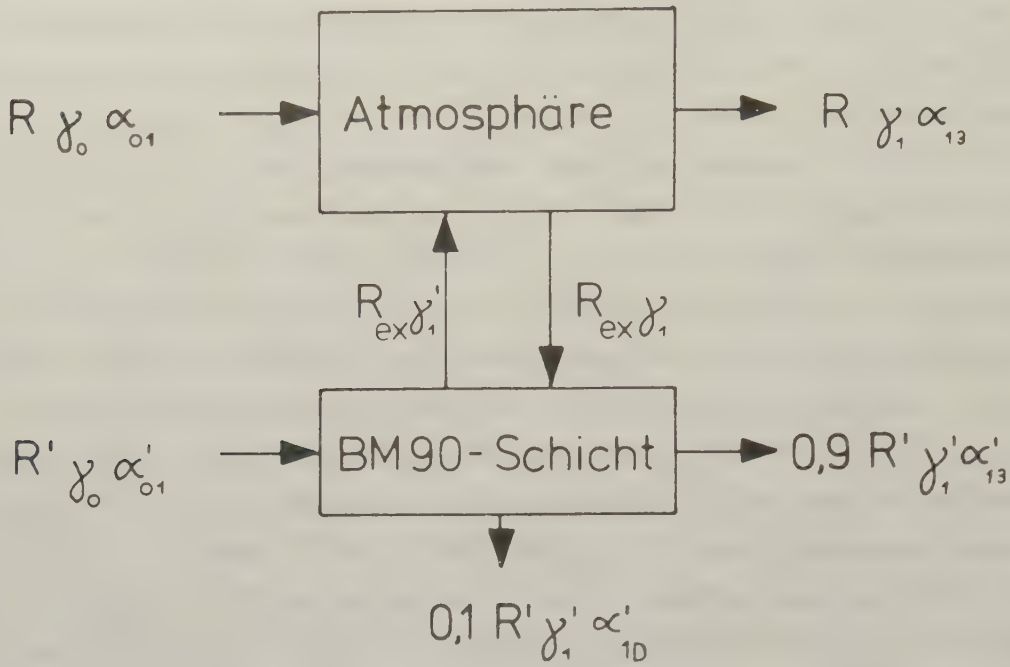


Abb. 24 Kompartimentmodell und stationäre ^{18}O -Ströme, aus deren Bilanz sich die stationäre Isotopenzusammensetzung der Reservoirs ergibt. BM 90-Schicht = Oberflächenschicht des Meeres, die 90 % der Biomasse enthält; 10 % der erzeugten Biomasse und des Sauerstoffs verlassen die Schicht nach unten. Gestrichene Größen (') beziehen sich auf den marinen Biozyklus, (aus WAGENER, 1974).

Die 90 %-Schicht des Ozeans soll definitionsgemäß neun Zehntel der marinen Biomasse enthalten und bezüglich des Sauerstoff-Austausches als gut gemischtes Reservoir angesehen werden, da die mittlere Lebensdauer eines O_2 -Moleküls in dieser Schicht etwa fünf Jahre beträgt und die Vermischungszeit weitaus kürzer ist. Der ^{18}O -Gehalt im Luftsauerstoff ist weltweit konstant (DOLE et al., 1954, HORIBE et al., 1973). Eine mögliche Verschiebung des Isotopenverhältnisses beim Phasenübergang des

Sauerstoffs aus dem Wasser in die Atmosphäre kann wegen der geringen Größe des Effekts vernachlässigt werden (vgl. Kap. 3.3.2). Die Pfeile geben die Richtung des Stoffumsatzes an. Wenn beide Reservoirs in Hinblick auf Gehalt und Isotopenzusammensetzung des Sauerstoffs im stationären Zustand sind, müssen folgende Bilanzgleichungen erfüllt sein:

Atmosphäre:

$$R (\gamma_O \alpha_{O1} - \gamma_1 \alpha_{13}) + R_{ex} (\gamma_1' - \gamma_1) = 0 \quad (43)$$

90 %-Schicht:

$$R' (\gamma_O \alpha_{O1}' - 0.9 \gamma_1' \alpha_{13}' - 0.1 \gamma_1' \alpha_{1D}') + R_{ex} (\gamma_1 - \gamma_1') = 0 \quad (44)$$

Die Umsatzraten sind als globale Mittelwerte aus LIETH und WHITTAKER (1975) entnommen und betragen $1.16 \cdot 10^{11} \text{ t O}_2 \text{ a}^{-1}$ auf dem Festland und $0.64 \cdot 10^{11} \text{ t O}_2 \text{ a}^{-1}$ im Meer. Abweichungen entsprechend der Schätzung von WALKER (1974) um fast das Doppelte haben nur einen geringen Einfluß auf das Gesamtergebn. Der Fraktionierungsfaktor α_{1D}' ist mit 1.0 anzusetzen, da es sich hierbei um den Transport von Sauerstoff (und Biomasse) mittels bewegter Wasserkörper handelt, wobei keine Isotopenverschiebung auftritt. Der Wert für α_{O1} (Photosynthese im terrestrischen System) stellt - wie alle anderen Größen zur Modellrechnung auch - ebenfalls eine globale Abschätzung dar. Er wurde unter der Annahme einer Freisetzung von Sauerstoff ohne Isotopenverschiebung aber unter Berücksichtigung der regionalen und tageszeitlichen Abhängigkeiten des H_2^{18}O -Gehaltes im Blattwasser und des regionalen Anteils der einzelnen Vegetationsgebiete an der Gesamtproduktivität errechnet und beträgt nach WAGENER (1974) 1.007 bzw. nach DONGMANN (1974) 1.008. Gemäß einer neueren Abschätzung (SCHLESER, 1977) lautet er jedoch nur 1.0045. Wenn allerdings auch Landpflanzen eine Anreicherung bei der Photosynthese ähnlich dem Befund bei *T. rotula* aufweisen, ist mit Anreicherungen von 1.0147 bzw. 1.0121 zu rechnen. Der Wert für α_{13} (Respiration im terrestrischen System) wurde von SCHLESER (1977) ermittelt (s.o.), wohingegen α_{13}'

einen Mittelwert für die marine Respiration aus Literaturdaten (WAGENER, 1974) darstellt, in denen aus der Abnahme der Sauerstoff-Konzentration und der Anreicherung von ^{18}O mit zunehmender Tiefe unter Annahme einer RAYLEIGH-Fraktionierung ein Anreicherungs-faktor über die ganze untersuchte Wassersäule unterhalb des Sauerstoff-Minimums ermittelt wurde. Im Modell muß statt mit den α_r -Werten (1.017 bzw. 1.014) mit dem Wert $\alpha_{13} = 1 - \delta$ mit $\delta = \alpha_r - 1$ (d. h. 0.983 bzw. 0.986) gerechnet werden, da für die Bilanzierung nicht die Anreicherung im verbleibenden Sauerstoff, sondern die Abreicherung in dem mit der betreffenden Rate dem Kompartiment entzogenen Anteil von Bedeutung ist. Der Wert α'_{01} (Photosynthese im marinen System) wurde in den bisherigen Rechnungen mit 1.0 angesetzt.

Aus den Gleichungen 43 und 44 läßt sich durch Gleichsetzen und Umformen der Wert für γ'_1/γ_0 - das entspricht der Anreicherung an ^{18}O im gelösten Sauerstoff der 90 %-Schicht nach Formel 45 errechnen

$$\gamma'_1 = \frac{R' \gamma_0 \alpha'_{01} + R (\gamma_1 \alpha_{01} - \gamma_1 \alpha_{13})}{R' (0.9 \alpha'_{13} + 0.1)} \quad (45)$$

Der Wert für γ_0 wird mit 1.0 angesetzt (Ozeanwasser, etwa identisch mit SMOW). Tabelle 15 zeigt die errechneten Werte für $\delta[\text{‰}] = (\gamma'_1/\gamma_0 - 1) \cdot 1000$ für verschiedene Ausgangsdaten α_{01} , α'_{01} und α'_{13} . Gleichzeitig läßt sich aus Gleichung 44 das Verhältnis R_{ex}/R' errechnen:

$$\frac{R_{\text{ex}}}{R'} = \frac{\gamma_0 \alpha'_{01} - 0.9 \gamma'_1 \alpha'_{13} - 0.1 \gamma'_1}{\gamma'_1 - \gamma_1} \quad (46)$$

Für den Grenzfall eines unendlich schnellen Austausches ($R_{\text{ex}} = \infty$) gilt $\gamma'_1/\gamma_0 = 1.0235$ ($\delta = 23.5 \text{ ‰}$). Für $R_{\text{ex}} = 0$ läßt sich γ'_1/γ_0 berechnen nach der Gleichung:

$$\gamma'_1 = \frac{\gamma_0 \alpha'_{01}}{0.9 \alpha'_{13} + 0.1} \quad (47)$$

Tabelle 15 Mittlere Anreicherung an ^{18}O - $\delta[\text{‰}]$ - in der 90 %-Schicht, ermittelt aus dem Kompartimentmodell unter Verwendung verschiedener Ausgangswerte für die Fraktionierung bei der terrestrischen Photosynthese (α_{01}), der marinen Photosynthese (α'_{01}) und der marinen Respiration (α'_{13}). Es gilt außerdem: $\alpha_{13} = 0.983$ sowie $R = 1.16 \cdot 10^{11} \text{ t O}_2 \text{ a}^{-1}$ und $R' = 0.64 \cdot 10^{11} \text{ t O}_2 \text{ a}^{-1}$.

α_{01}	α'_{01}	α'_{13}	$\delta[\text{‰}]$ aus Gl. 45	$\delta[\text{‰}]$ aus Gl. 47
1.0070 ^b	1.0000 ^b	0.986 ^b	14.41	
1.0045 ^d	1.0000	0.986	9.82	12.76
1.0070	1.0000	0.979 ^c	20.93	
1.0045	1.0000	0.979	16.31	19.26
1.0070	1.0076 ^e	0.975 ^e	32.46	
1.0045	1.0076	0.975	27.83	30.79
1.0070	1.0058 ^e	0.975	30.62	
1.0045	1.0058	0.975	25.98	28.95
1.0080 ^a	1.0076	0.975	34.31	
1.0121 ^e	1.0076	0.975	46.65	30.79
1.0147 ^e	1.0076	0.975	41.97	

a) aus DONGMANN, 1974; b) aus WAGENER, 1975; c) aus KROOPNICK, 1975; d) aus SCHLESER, 1977 und e) aus dieser Arbeit.

Diese Werte für γ'_1/γ_0 sind als $\delta[\text{‰}]$ -Werte ebenfalls in Tabelle 15 aufgeführt. Sie stimmen mit den Resultaten aus Gleichung 45 nicht genau überein, da bei dieser Rechnung der Beitrag der terrestrischen Photosynthese nicht berücksichtigt wird.

Als Isotopenverschiebung im gelösten Sauerstoff fanden RAKE-STRAW et al. (1951) im Pazifik bis 200 m Wassertiefe 22.03 bis 33.31 ‰. KROOPNICK (1971) ermittelte für verschiedene Stationen im gleichen Tiefenbereich δ -Werte von 22.8 bis 34,7 ‰. In

der nördlichen Nordsee bestimmten FÖRSTEL und ZIELKE (1978) von 0 bis 140 m die Abweichungen zu 21.8 bis 35.8 ‰. Sowohl RAKE-STRAW et al. (1951) als auch FÖRSTEL und ZIELKE (1978) fanden in den Oberflächenproben Isotopenverschiebungen, die geringer waren als der Normalwert für Luft. Da diese δ -Werte in beiden Fällen mit Sauerstoff-Konzentrationen über dem Sättigungswert zusammenfielen, liegt die Vermutung nahe, daß durch intensive Photosynthese des Phytoplanktons eine 'Verdünnung' des Luft-sauerstoffs stattfand.

Wie Tabelle 15 zeigt, sind die im Meer gefundenen Maximalwerte mit den maximalen Anreicherungen, die sich mit den bisherigen Daten aus WAGENER (1975) ergeben, überhaupt nicht übereinstimmend. Eine leicht verbesserte Anpassung ist durch die Verwendung des Fraktionierungsfaktors für die marine Respiration aus KROOPNICK (1971) zu erreichen. Diese Diskrepanz verdeutlicht, daß eine Überprüfung der Anreicherungs-faktoren für Photosynthese und Respiration im marinen Biozyklus nötig war. Unter der Voraussetzung, daß die in dieser Arbeit errechneten Fraktionierungsfaktoren den Verhältnissen in der 90 ‰-Schicht etwa entsprechen, wurden mit ihnen ebenfalls Berechnungen der δ [‰]-Werte durchgeführt. Erst durch die Benutzung dieser Daten ist eine sehr gute Übereinstimmung zu erreichen. Dabei liefert selbst der Mittelwert der für eventuell stattfindende Dunkel-atmung korrigierten Anreicherung in der Lichtphase noch eine gute Anpassung. Die Werte, die sich unter der Annahme einer entsprechend hohen Anreicherung auch bei der terrestrischen Photosynthese ergeben, liegen allerdings extrem hoch. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Fraktionierungsfaktoren können also unter den für das Modell festgelegten Prämissen die Anreicherung an ^{18}O im gelösten Sauerstoff der oberen Wasserschichten sehr gut erklären. Die Kenntnis der maximal möglichen Anreicherungen erlaubt durch den Vergleich mit tatsächlich gefundenen Werten aus Meeresuntersuchungen auch eine indirekte Aussage über die Größe der Austauschrate R_{ex} entsprechend Gleichung 46. Die bisher gefundenen Zahlen (s.o.) deuten an, daß nur in den allerobersten Schichten ein intensiver Austausch mit atmosphärischem Sauerstoff stattfindet.

In diesem Fall kann also auch der marine Biozyklus zum DOLE-Effekt beitragen.

Die beobachtete Anreicherung im photosynthetisch freigesetzten Sauerstoff ist noch kein Indiz, daß in diesem Fall der Sauerstoff nicht durch die Wasserspaltung gebildet wird. Der Versuchsaufbau entsprach auch nicht den von METZNER (1975) aufgeführten Kriterien zur Untersuchung dieser Fragestellung. Um so bemerkenswerter ist es, daß bei der Photosynthese von Thylakoiden unterschiedlicher Herkunft (METZNER, pers. Mitteilung) und intakten Zellen der Alge *Ankistrodesmus braunii* (METZNER et al., 1979) ähnliche Anreicherungen im Photosynthese-Sauerstoff gefunden wurden. Da eine Isotopenverschiebung bei der Wasserspaltung keine Abhängigkeit von der Lichtintensität aufweisen sollte und diese Frage zum einen nicht das Ziel der vorliegenden Untersuchung und zum anderen nach dem heutigen Kenntnisstand noch nicht endgültig geklärt ist, wird im folgenden versucht, die Anreicherung ohne Fraktionierung bei der Sauerstoff-Bildung zu deuten.

Weil der Effekt nicht nur durch die Annahme einer Dunkelatmung in der Lichtphase (Mitochondrien-Atmung und bakterielle Respiration) erklärt werden kann und mit steigender Lichtintensität zunimmt, ist es möglich, daß eine mit der Beleuchtung positiv korrelierte Art von Sauerstoff-Aufnahme wie z. B. die Photorespiration, welche nach den Ausführungen auf Seite 109 für *T. rotula* durchaus möglich ist, für die Anreicherung verantwortlich ist. Eine bevorzugte Aufnahme von ^{16}O bei der Photorespiration wurde auch von BUNT und HEEB (1971) vermutet. Bei dieser Reaktion konkurrieren Sauerstoff und Kohlendioxid um das Enzym Ribulose-Diphosphat-Carboxylase/Oxygenase (ANDREWS et al., 1973; LORIMER et al., 1973), wobei im Falle von Kohlendioxid über die Oxygenase-Reaktion Glykolat gebildet wird. Weiterer Sauerstoff-Verbrauch ist bei der nachfolgenden Oxidation durch Glykolat-Oxidase und der Oxidation von Glycin möglich (TOLBERT, 1974). Extern angebotener, an ^{18}O angereicherter Sauerstoff ist als Markierung in den Carboxylgruppen der Endprodukte Glycin und Serin zu finden (ANDREWS et al., 1971).

Zu den in Abbildung 18 dargestellten Kurven gehören jedoch jeweils die kleinsten Werte für α_{ps} und α'_{ps} der betreffenden Gruppe. Außerdem fehlt bei allen Versuchstemperaturen eine Zunahme der Anreicherung mit steigender Sauerstoff-Konzentration. Diese Befunde lassen den Schluß zu, daß eventuell noch eine andere Reaktion zur Isotopenverschiebung beitragen könnte. BUNT und HEEB (1971) weisen schon darauf hin, daß die Sauerstoff-Aufnahme bei Belichtung nicht notwendigerweise mit dem Glykolat-Stoffwechsel gekoppelt sein muß. EGNEUS et al. (1975) konnten durch Untersuchungen an intakten Spinat-Chloroplasten zeigen, daß die Glykolat-Bildung bilanzmäßig nicht für die beobachtete Sauerstoff-Aufnahme ausreicht. Statt dessen postulieren die Autoren eine Konkurrenz von Sauerstoff und NADP um die am Ferredoxin anfallenden Elektronen unter Bildung des Superoxidradikalions O_2^- , welches inhibierend wirkt, wenn es nicht durch Katalase abgebaut wird. Eine Bestätigung dieser Befunde liefert ALLEN (1975). Das System stellt einen Regelmechanismus der Zelle dar, um entsprechend dem jeweiligen Bedarf an ATP und NADPH+H und den vorherrschenden Umweltbedingungen eine flexible Anpassung zu gewährleisten. Das Ausmaß der Netto-Sauerstoff-Aufnahme wird durch die vorhandene Menge an Katalase bestimmt. Es sind also auch Sauerstoff-Umsetzungen ohne bilanzmäßige Abnahme möglich. Diese Ergebnisse konnten RADMER und KOK (1976) an intakten Zellen von *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* und *Anacystis nidulans* bestätigen. Die Sauerstoff-Aufnahme war unabhängig vom CALVIN-Zyklus aber an einen intakten photosynthetischen Elektronentransport gebunden. Für *A. nidulans* konnte auch die Bildung von H_2O_2 nachgewiesen werden.

Sowohl Photorespiration als auch der vorstehend beschriebene Reaktionsmechanismus weisen genug enzymatische Reaktionen auf, an denen Fraktionierungen des Sauerstoffs möglich sind. Ob und in welchem Ausmaß eine oder beide Reaktionen für den in dieser Arbeit an *T. rotula* beobachteten Anreicherungsseffekt verantwortlich sind, ist nur durch weitere Versuche (Einsatz von Hemmstoffen) zu klären. Zumindest erscheint es wahrscheinlich, daß Reaktionen dieser Art Anreicherungen hervorrufen können.

5. Zusammenfassung

1. Durch Messung der Sauerstoff-Konzentration konnten die Netto-Photosyntheserate und die Dunkelatmungsrate in bakterienarmen Kulturen der marinen Kieselalge *Thalassiosira rotula* MEUNIER unter möglichst naturnahen Bedingungen bei Temperaturen von 5, 10 und 15 °C und Beleuchtung mit 37 bis 320 $\mu\text{Einstein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ in angereichertem natürlichem Seewasser bestimmt werden. Die maximalen mittleren Photosyntheseraten betragen 273 bis 558 $\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$. Die Mittelwerte der Dunkelatmungsraten reichen von 27 bis 50 $\mu\text{Mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg Chl a}^{-1}$ und machen im Mittel 11.5 % der Produktionsrate in der vorhergehenden Lichtphase aus.
2. Die Abhängigkeit der Photosyntheserate von der Lichtintensität zeigt Sättigung bei 80, 240 und 310 $\mu\text{Einstein m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ für 5, 10 und 15 °C. In manchen Fällen tritt bei hohen Sauerstoff-Konzentrationen ($\geq 6 \text{ ml O}_2 \text{ l}^{-1}$) eine Reduktion der Produktionsrate bis zu 80 % auf, welche vermutlich auf Photorespiration zurückzuführen ist.
3. Die Dunkelatmungsrate ist bei 15 °C positiv mit der Lichtintensität in der vorhergehenden Lichtphase und negativ mit dem Kulturalter korreliert. Diese Befunde und das relativ niedrige Verhältnis von Respirationsrate zu Netto-Photosyntheserate deuten darauf hin, daß der Gasumsatz in der Dunkelphase vornehmlich durch die Algen und weniger durch die mikrobielle Begleitflora bestimmt wird.
4. Durch Extraktion des Sauerstoffs in einer Vakuumapparatur konnte nach Umwandlung in Kohlendioxid das Isotopenverhältnis $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ massenspektrometrisch ermittelt und daraus die Isotopenfraktionierung bei der Respiration bzw. die Anreicherung von ^{18}O im photosynthetisch freigesetzten Sauerstoff gegenüber dem Kulturwasser errechnet werden. Der Fraktionierungsfaktor bei der Respiration (α_r) beträgt im Mittel 1.02557 (d.h. das leichte Isotop wird bei der Atmung um 2.6 % bevorzugt aufgenommen). Er nimmt mit

zunehmendem Kulturalter ab.

5. Die Anreicherung während der Photosynthese beträgt im Mittel 7.6 ‰ ($\alpha_{ps} = 1.0076$). Der Fraktionierungsfaktor nimmt mit steigender Lichtintensität leicht zu. Selbst unter der Annahme, daß die Dunkelatmung bei Belichtung unverändert beibehalten wird, bleibt eine Überhöhung im ^{18}O -Gehalt des Photosynthese-Sauerstoffs von durchschnittlich 5.8 ‰ übrig ($\alpha'_{ps} = 1.0058$). Diese Anreicherung ist vermutlich auf Photorespiration oder Photoreduktion von Sauerstoff zurückzuführen.

6. Mit den gemittelten Fraktionierungsfaktoren für Photosynthese und Respiration im marinen Biozyklus wurde eine Überprüfung eines 2-Kompartimentmodells des globalen Sauerstoffzyklus durchgeführt. Dabei ergaben sich für die Anreicherung von ^{18}O im gelösten Sauerstoff der oberen Meeresschicht Werte von 23.5 bis etwa 32 ‰ bei einer Austauschrate zwischen Atmosphäre und Meer von ∞ bzw. 0. Diese Zahlen weisen die bisher beste Übereinstimmung mit im Ozean tatsächlich gefundenen Meßdaten auf.

6. Literaturverzeichnis

ALETSEE, L.: Persönliche Mitteilung.

ALLEN, J. F. 1975: Oxygen reduction and optimum production of ATP in photosynthesis. *Nature*, 256, (5518), 599 - 600 .

ANDERSON, O. R. 1976: Respiration and photosynthesis during resting cell formation in *Amphora coffaeiformis* (AG.) KÜTZ. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (3), 452 - 456.

ANDREWS, T. J., G. H. LORIMER and N. E. TOLBERT, 1971: Incorporation of Molecular Oxygen into Glycine and Serine during Photorespiration in Spinach Leaves. *Biochemistry*, 10, 4777 - 4782.

ANDREWS, T. J., G. H. LORIMER and N. E. TOLBERT, 1973: Ribulose Diphosphate Oxygenase. I. Synthesis of Phosphoglycolate by Fraction-1-Protein of Leaves. *Biochemistry*, 12, 11 - 18.

BAERTSCHI, P. 1976: Absolute ¹⁸O Content of Standard Mean Ocean Water. *Earth Plan. Sci. Letters*, 31, 341 - 344.

BARTEL, H. 1972: Statistik II. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 203 pp.

BEARDALL, J. and I. MORRIS, 1975: Effects of environmental factors on photosynthesis patterns in *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae). II. Effect of oxygen. *J. Phycol.*, 11, 430 - 434.

BEARDALL, J. and I. MORRIS, 1976: The Concept of Light Intensity Adaptation in Marine Phytoplankton: Some Experiments with *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Biology*, 37, 377 - 387.

BERMAN, T. and R. W. EPPLEY, 1974: The measurement of phytoplankton parameters in nature. *Sci. Progr.*, 61, 219 - 239.

BILO, H. 1976: Untersuchungen zur Rhythmik des Teilungswachstums, des Chlorophyll-, Carotinoid- und Eiweißgehaltes sowie der Primärproduktion an Kulturen von *Prorocentrum micans* EHRENBURG und *Thalassiosira rotula* MEUNIER. Diplomarbeit, RWTH Aachen.

BLACK, C. C. jr., J. E. BURRIS and R. G. EVERSON, 1976: Influence of oxygen concentration on photosynthesis in marine plants. *Austr. J. Plant Physiol.*, 3 (1), 81 - 86.

BOOTH, C. R. 1976: The design and evaluation of a measurement system for photosynthetically active quantum scalar irradiance. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (2), 326 - 336.

BREWER, P. G. and J. C. GOLDMANN, 1976: Alkalinity changes generated by phytoplankton growth. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (1), 108 - 117.

BRODSKY, A. 1961: Isotopenchemie. Akademie-Verlag, Berlin, (Übers. v. J. MÜHLENPFORDT), 699 pp.

BROWN, A. H. 1953: The effects of light on respiration using isotopically enriched oxygen. Amer. J. Bot., 40, 719 - 729.

BROWN, D. L. and E. B. TREGUNNA, 1967: Inhibition of respiration during photosynthesis by some algae. Can. J. Bot., 45, 1135 - 1143.

BRUNNÉE, C. und H. VOSHAGE, 1964: Massenspektrometrie. Verlag Karl Thiemig, München, 316 pp.

BUNT, J. 1965: Measurements of Photosynthesis and Respiration in a Marine Diatom with the Mass Spectrometer and with Carbon-14. Nature, 207, (5004), 1373 - 1375.

BUNT, J. S. 1969: The CO₂ compensation point, Hill activity and photorespiration. Biochem. Biophys. Res. Commun., 35, 748 - 753.

BUNT, J. S. and M. A. HEEB, 1971: Consumption of O₂ in the light by Chlorella pyrenoidosa and Chlamydomonas reinhardtii. Biochim. Biophys. Acta, 226, 354 - 359.

BURRIS, J. E. 1977: Photosynthesis, Photorespiration and Dark Respiration in Eight Species of Algae. Marine Biology, 39, 371 - 379.

CAPERON, J. and D. F. SMITH, 1978: Photosynthetic rates of marine algae as a function of inorganic carbon concentration. Limnol. Oceanogr., 23 (4), 704 - 708.

CURL, H. jr. and G. C. McLEOD, 1961: The Physiological Ecology of a Marine Diatom, Skeletonema costatum (GREV.) CLEVE. J. of Marine Research, 19 (2), 70 - 88.

CURL, H. and L. F. SMALL, 1965: Variations in photosynthetic assimilation ratios in natural, marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 10, (Suppl.), R67 - R72.

DOERFFEL, K. 1962: Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen. Z. anal. Chemie, 185, 1 - 98.

DOLE, M. 1935: The relative atomic weight of oxygen in water and air. J. Amer. Chem. Soc., 57, 2731.

DOLE, M., G. A. LANE, D. P. RUDD and D. A. ZAUKELIES, 1954: Isotopic composition of atmospheric oxygen and nitrogen. Geochim. et Cosmochim. Acta, 6, 65 - 78.

DONGMANN, G. 1974: The Contribution of Land Photosynthesis to the Stationary Enrichment of 18-O in the Atmosphere. Rad. and Environm. Biophys., 11, 219 - 225.

- DOWNTON, W. J. S., D. G. BISHOP, A. W. D. LARKUM and C. B. OSMOND, 1976: Oxygen inhibition of photosynthetic oxygen evolution in marine plants. *Austr. J. Plant Physiol.*, 3 (1), 73 - 79.
- DURBIN, E. G., R. W. KRAWIEC and T. J. SMAYDA, 1975: Seasonal Studies on Relative Importance of Different Size Fractions of Phytoplankton in Narragansett Bay (USA). *Marine Biology*, 32 (3) 271 - 287.
- EGNEUS, H. U. HEBER, U. MATTHIESEN and M. KIRK, 1975: Reduction of oxygen by the electron transport chain of chloroplasts during assimilation of carbon dioxide. *Biochim. Biophys. Acta*, 408, 252 - 268.
- EPPLEY, R. W., E. H. RENGGER, E. L. VENRICK and M. M. MULLIN, 1973: A study of plankton dynamics and nutrient cycling in the central gyre of the North Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 18 (4), 534 - 551.
- EPPLEY, R. W. and J. H. SHARP, 1975: Photosynthetic measurements in the central North Pacific: The dark loss of carbon in 24 h-incubations. *Limnol. Oceanogr.*, 20 (6), 981 - 987.
- FALKOWSKI, P. G. and D. P. STONE, 1975: Nitrate Uptake in Marine Phytoplankton: Energy Sources and Interaction with Carbon Fixation. *Marine Biology*, 32 (1), 77 - 84.
- FALKOWSKI, P. G. and T. G. OWENS, 1978: Effects of Light Intensity on Photosynthesis and Dark Respiration in Six Species of Marine Phytoplankton. *Marine Biology*, 45, 289 - 295.
- FÖRSTEL, H., H. BERNHARDT und G. SCHLESER, 1974: Tagesgang der $H_2^{18}O$ -Anreicherung im Blattwasser von Eiche und Birke. *Jül-1139-PC*.
- FÖRSTEL, H. and H. ZIELKE, 1978: Measurements of the $^{18}O/^{16}O$ Ratio of Dissolved Oxygen in the North Sea during FLEX '76. *Pageoph.*, 116, 486 - 496.
- FRESKO, W. 1977: Vorbereitungen zur automatischen Probenaufbereitung für die Messung des Sauerstoffisotopen-Verhältnisses $^{18}O/^{16}O$ in Wasserproben. Ingenieur-Arbeit, Fachhochschule Aachen, Abt. Jülich.
- GESSNER, F. and F. PANNIER, 1958: Influence of oxygen tension on respiration of phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 3 (4), 478
- GONFIANTINI, R. 1978: Standards for stable isotope measurements in natural compounds. *Nature*, 271, 534 - 536.
- GRIFFITHS, D. J. 1973: Factors Affecting the Photosynthetic Capacity of Laboratory Cultures of the Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Biology*, 21, 91 - 97.
- GRIFFITHS, D. J. 1976: The photosynthetic capacity of the phytoplankton in the waters of a Coral reef. *Austr. J. Plant Physiol.*, 3 (1), 53 - 56.

- GRIFFITHS, D. J., L. V. THINH and Z. FLORIAN, 1978: A modified chamber for the use with an oxygen electrode to allow measurement of incident illumination within the reaction suspension. *Limnol. Oceanogr.*, 23 (2), 368 - 371.
- HOBSON, L. A., D. W. MENZEL and R. T. BARBER, 1973: Primary Productivity and Sizes of Pools of Organic Carbon in the Mixed Layer of the Ocean. *Marine Biology*, 19 (4), 298 - 306.
- HOCH, G., O. v. H. OWENS and B. KOK, 1963: Photosynthesis and respiration. *Arch. Biochem. Biophys.*, 101, 171 - 180.
- HORIBE, Y., K. SHIGEHARA and Y. TAKAGUWA, 1973: Isotope Separation Factor of Carbon Dioxide-Water System and Isotopic Composition of Atmospheric Oxygen. *J. Geophys. Res.*, 78 (15), 2625 - 2629.
- HOUGH, R. A. 1976: Light and dark respiration and release of organic carbon in marine macrophytes of the Great Barrier Reef region. *Austr. J. Plant Physiol.*, 3 (1), 63 - 68.
- HUMPHREY, G. F. 1975: The photosynthesis : respiration ratio of some unicellular marine algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 18 (7), 111 - 119.
- JEFFREY, S. W. and G. F. HUMPHREY, 1975: New Spectrophotometric Equations Determining Chlorophylls a, b, c_1 and c_2 in Higher Plants, Algae and Natural Phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 167, 191 - 194.
- JØRGENSEN, E. G. 1966: Photosynthetic Activity during the Life of Synchronous *Skeletonema* Cells. *Physiologia Plantarum*, 19 (3), 789 - 799.
- KENNER, R. A. and S. I. AHMED, 1975: Correlation between Oxygen Utilization and Electron Transport Activity in Marine Phytoplankton. *Marine Biology*, 33, 129 - 133.
- KLEINZELLER, A. 1965: Manometrische Methoden und ihre Anwendung in der Biologie und Biochemie, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 620 pp.
- KROOPNICK, P. M. 1971: Oxygen and carbon in the oceans and atmosphere: Stable isotopes as tracers for consumption, production and circulation models. Diss., Univ. of California, San Diego.
- KROOPNICK, P. M. and H. CRAIG, 1972: Atmospheric Oxygen: Isotopic Composition and Solubility Fractionation. *Science*, 175, 54 - 55.
- KROOPNICK, P. M. 1974: The dissolved O_2 - CO_2 - ^{13}C system in the Eastern Equatorial Pacific. *Deep-Sea Research*, 21, 211 - 227.
- KROOPNICK, P. M. 1975: Respiration, photosynthesis and oxygen isotope fractionation in oceanic surface water. *Limnol. Oceanogr.* 20, 988 - 992.

KRUMBIEGEL, P. 1970: Isotopieeffekte. Akademie-Verlag GmbH, Berlin, 192 pp.

KUTYURIN, V. M. 1969: The isotopic composition of oxygen liberated by plants. Israel Progr. Sci. Transl., Problems of Geochemistry, 661 - 667.

LIETH, H. and R. H. WHITTAKER, 1975: Primary Productivity of the Biosphere. Springer-Verlag, New York - Heidelberg - Berlin, 339 pp.

LORIMER, G. H., T. J. ANDREWS and N. E. TOLBERT, 1973: Ribulose diphosphate oxygenase. II. Further proof of reaction products and mechanism of action. Biochemistry, 12 (1), 18 - 23.

MALONE, T. C. 1977: Light-Saturated Photosynthesis by Phytoplankton Size Fractions in the New York Bight, USA. Marine Biology, 42, 281 - 292.

MANDELLI, E. F., P. R. BURKHOLDER, T. E. DOHENY and R. BRODY, 1970: Studies of primary productivity in coastal waters of southern Long Island, New York. Marine Biology, 7, 153 - 160.

MCCARTHY, J. J., W. ROWLAND TAYLOR and M. E. LOFTUS, 1974: Significance of Nanoplankton in the Chesapeake Bay Estuary and Problems Associated with the Measurement of Nanoplankton Productivity. Marine Biology, 24 (1), 7 - 16.

METZNER, H.: Persönliche Mitteilung.

METZNER, H. 1975: Water Decomposition in Photosynthesis? A Critical Reconsideration. J. theor. Biol., 51, 201 - 231.

METZNER, H. 1978: Oxygen evolution as energetic problem. In: H. METZNER (ed), Photosynthetic Oxygen Evolution. Academic Press, London - New York - San Francisco, 532 pp.

METZNER, H., K. FISCHER and O. BANZLEN, 1978: Isotope Ratios in Photosynthetic Oxygen. (in Vorbereitung).

MORITA, N. 1935: The increased density of air oxygen relative to water oxygen. J. Che. Soc. Japan, 56, 1291

MORRIS, I. and H. E. GLOVER, 1974: Questions on the Mechanism of Temperature Adaptation in Marine Phytoplankton. Marine Biology, 24 (2), 147 - 154.

NÖSEL, H. 1969: Kritische Untersuchungen über die Genauigkeit und Zuverlässigkeit membran-polarometrischer O₂-Messungen in der Abwasserpraxis. Die Wasserwirtschaft, 9, 260 - 267.

PACKARD, T. T., A. H. DEVOL and F. D. KING, 1975: The effect of temperature on the respiratory electron transport system in marine plankton. Deep-Sea Research, 22 (4), 237 - 249.

PARK, P. K., A. L. BRADSHAW, D. W. MENZEL, K. E. SCHLEICHER and H. C. CURL jr., 1969: Changes in Electrolytic Conductance

of Seawater during Photosynthesis and Respiration. J. of the Oceanogr. Soc. Japan, 25 (3), 119 - 122.

PAUL, J. S. and B. E. VOLCANI, 1975: Photorespiration in diatoms. III. Glycolate : cytochrome c reductase in the diatom *Cylindrotheca fusiformis*. Plant Science Letters, 5, 281 - 285.

POPE, D. H. 1975: Effects of Light Intensity, Oxygen Concentration and Carbon Dioxide Concentration on Photosynthesis in Algae. Microbial Ecology, 2 (1), 1 - 16.

RADMER, R.J. and B. KOK, 1976: Photoreduction of O_2 Primes and Replaces CO_2 Assimilation. Plant Physiol., 58, 336² - 340.

RAKESTRAW, N. M., D. P. RUDD and M. DOLE, 1951: Isotopic composition of oxygen in air dissolved in Pacific Ocean waters as a function of depth. J. Am. Chem. Soc., 73, 2976.

RAUEN, H. M. 1964: Biochemisches Taschenbuch, Vol. 1, Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1060 pp.

RILEY, J. P. and G. SKIRROW, (eds), 1975: Chemical Oceanography. Vol. 2, Academic Press, London - New York - San Francisco, 647 pp.

RUBEN, S., M. RANDALL, M. KAMEN and J. HYDE, 1941: Heavy O_2 (O^{18}) as a tracer in the study of photosynthesis. J. Amer. Chem. Soc., 63, 877.

RYTHER, J. H. 1956: The measurement of primary production. Limnol. Oceanogr., 1, 72

RYTHER, J. H. and D. W. MENZEL, 1959: Light adaptation by marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 4, 492 - 497.

SCHIDLOWSKI, M., R. EICHMANN und C. E. JUNGE, 1974: Evolution des irdischen Sauerstoff-Budgets und Entwicklung der Erdatmosphäre. Umschau, 74 (22), 703 - 707.

SCHLESER, G. H. 1977: Die Isotopenfraktionierung des Sauerstoffs bei der Respiration. Diss., RWTH Aachen.

SCHÖNE, H. K.: Persönliche Mitteilung.

SCHÖNE, H. K. 1972: Experimentelle Untersuchungen zur Ökologie der marinen Kieselalge *Thalassiosira rotula*. I. Temperatur und Licht. Marine Biology, 13, 284 - 291.

SCHÖNE, H. K. 1977: Die Vermehrungsrate mariner Planktondiatomeen als Parameter in der Ökosystemanalyse. Habilitationsschrift, RWTH Aachen.

SMITH, S. V. and G. S. KEY, 1975: Carbon dioxide and metabolism in marine environments. Limnol. Oceanogr., 20 (3), 493 - 495.

SKIRROW, G. 1975: The Dissolved Gases - Carbon Dioxide. In: RILEY, J. P. and G. SKIRROW (eds), Chemical Oceanography,

Vol. 2, 1 - 192, Academic Press, London - New York - San Francisco.

SOURNIA, A. 1974: Circadian Periodicities in Natural Populations of Marine Phytoplankton. *Advances in Marine Biology*, 12, 325 - 389.

STASCHEWSKI, D. 1970: Photosynthese und Sauerstoffaustausch bei Grün- und Blaualgen nach ^{18}O -Markierungsversuchen mit strömendem Kohlendioxid-Gas. Gesellschaft für Kernforschung m.b.H., Karlsruhe, Report Nr. 1137.

STEMLER, A. and R. RADMER, 1975: Source of Photosynthetic Oxygen in Bicarbonate-Stimulated Hill Reaction. *Science*, 190, 457 - 458.

STEVENS, C. L. R., D. SCHULZ, C. van BAALEN and P. L. PARKER, 1975: Oxygen Isotope Fractionation during Photosynthesis in a Blue-Green and a Green Alga. *Plant Physiol.*, 56, 126 - 129.

STRICKLAND, J. D. H. 1960: Measuring the Production of Marine Phytoplankton. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin No. 122, 172 pp.

STRICKLAND, J. D. H. and T. R. PARSONS, 1968: A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167, 311 pp.

TAKAHASHI, M., S. SHIMURA, Y. YAMAGUCHI and Y. FUJITA, 1971: Photo-inhibition of Phytoplankton Photosynthesis as a Function of Exposure Time. *J. of the Oceanogr. Soc. Japan*, 27 (2), 43 - 50.

THOMAS, W. H., A. N. DODSON and F. M. H. REID, 1978: Diatom productivity compared to other algae in natural marine phytoplankton assemblages. *J. Phycol.*, 14, 250 - 253.

TOLBERT, N. E. 1974: Photorespiration. In: STEWART, W. D. P. (ed), *Algal Physiology and Biochemistry*. Botanical Monographs, Vol. 10, pp 474 - 504, Blackwell Scientific Publications, Oxford - London - Edinburgh - Melbourne.

TOLBERT, N. E. and W. GAREY, 1976: Apparent total CO_2 equilibrium point in marine algae during photosynthesis in sea water. *Austr. J. Plant Physiol.*, 3 (1), 69 - 72.

UKELES, R. and J. BISHOP, 1975: Enhancement of phytoplankton growth by marine bacteria. *J. Phycol.* 11 (2), 142 - 149.

ULICH, H. und W. JOST, 1970: Kurzes Lehrbuch der Physikalischen Chemie. 17. Auflage, Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, 482 pp.

UREY, H. C. 1947: The thermodynamic properties of isotopic substances. *J. Chem. Soc. London*, 562 - 581.

VAN VALKENBURG, S. D. and D. A. FLEMER, 1974: The Distribution and Productivity of Nanoplankton in a Temperate Estuarine Area. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 2 (4), 311 - 323.

VENRICK, E. L., J. R. BEERS and J. F. HEINBOKEL, 1977: Possible consequences of containing microplankton for physiological rate measurements. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 26, 55 - 76.

VERDUIN, J. 1957: Daytime variations in phytoplankton photosynthesis. *Limnol. Oceanogr.*, 2, 333 -

VINOGRADOV, A. P., V. M. KUTYURIN, M. V. ULUBEKOVA and I. K. ZADOROZHNYI, 1959: Izotopnyi sostav kisloroda fotosinteza. *Doklady AN SSSR*, 125, 1151 - 1153.

WAGENER, K. 1973: Entwicklung der irdischen Atmosphäre durch die Evolution der Biosphäre. Rheinisch-Westfälische Akademie der Wissenschaften, Vorträge, Nr. 233, Westdeutscher Verlag, Opladen, 36 pp.

WAGENER, K. 1974: Isotopenfraktionierung im Sauerstoffzyklus der Erde. *Z. Naturforschung*, 29a, 245 - 250.

WAGENER, K. 1975: Kinetic Isotope Effects of Oxygen in Photosynthesis and Respiration. In: E. D. GOLDBERG (ed), *The Nature of Seawater*. Dahlem Konferenzen, 433 - 451, Abakon Verlagsgesellschaft, Berlin.

WALKER, J. C. G. 1974: Stability of Atmospheric Oxygen. *Amer. J. Science*, 274, 193 - 214.

WEBER, E. 1967: *Grundriß der Biologischen Statistik*. G. Fischer Verlag, Stuttgart, 6. Auflage, 674 pp.

ZEITZSCHEL, B. 1970: The Quantity, Composition and Distribution of Suspended Particulate Matter in the Gulf of California. *Marine Biology*, 7, 305 - 318.

ZELITCH, I. 1971: *Photosynthesis, Photorespiration and Plant Productivity*. Academic Press, New York and London, 347 pp.

ZIELKE, H. and H. FÖRSTEL, 1979: Oxygen isotope fractionation during photosynthesis and respiration of a marine diatom. In: KLEIN, E. R. and P. D. KLEIN (eds), *Stable Isotopes, Proceedings of the Third International Conference*, 205 - 214, Academic Press, New York, San Francisco, London.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Biophysikalische Chemie (ICH 2) der Kernforschungsanlage Jülich durchgeführt.

Herrn Professor Dr. K. Wagener danke ich für die Bereitstellung von Thema und Arbeitsplatz sowie seine wissenschaftliche Unterstützung. Außerdem gilt mein Dank Herrn Professor Dr. A. Trebst und Herrn Professor Dr. A. Redhardt für die Übernahme des Referates bzw. Korreferats.

Herr Priv.-Doz. Dr. H.K. Schöne (RWTH Aachen) hat freundlicherweise das Untersuchungsobjekt *Thalassiosira rotula* zur Verfügung gestellt. Ihm sowie Herrn Dr. H. Förstel und Herrn Dr. G. Schleser sei an dieser Stelle für die ständige Bereitschaft zu fruchtbaren Diskussionen und für wertvolle Anregungen gedankt.

Für hilfsbereite Unterstützung am Massenspektrometer danke ich Herrn H. Hützen. Der Instituts-Glasbläserei unter der Leitung von Herrn A. Schwaitzer und der Zentralglasbläserei unter Leitung von Herrn H.E. Kremer danke ich für die gewissenhafte Herstellung der Versuchsaufbauten. Frau B. Vincken übernahm dankenswerterweise die Reinschrift des Manuskripts. Der Arbeitsgruppe 'Urananreicherung aus Meerwasser' danke ich für die Bereitstellung von gefiltertem Meerwasser.

Lebenslauf

Am 8. Mai 1950 wurde ich als drittes Kind des Schleifers Otto Zielke und seiner Ehefrau Emilie geb. Pansegrau in Halver, Kreis Altena, geboren. Von 1957 bis 1961 besuchte ich die Evangelische Volksschule Halver und anschließend bis 1965 die Realschule Halver. Danach wechselte ich zum Aufbaugymnasium über, wo ich im Mai 1969 die Reifeprüfung bestand. Im Wintersemester 1969/70 begann ich mit dem Biologie-Studium an der Ruhr-Universität Bochum. 1971 legte ich die Diplom-Vorprüfung und 1973 die Diplom-Hauptprüfung ab. Im Januar 1975 beendete ich meine Diplom-Arbeit am Institut für Algenforschung und Algentechnologie der GSF in Dortmund. Im Februar 1975 begann ich mit der Bearbeitung des Dissertationsthemas unter der Betreuung von Herrn Professor Dr. Klaus Wagener im Institut für Biophysikalische Chemie der Kernforschungsanlage Jülich. Während dieser Zeit war ich an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen immatrikuliert. Den experimentellen Teil der Dissertation habe ich 1978 abgeschlossen. Seit 1975 bin ich verheiratet. Aus dieser Ehe entstammen zwei Kinder.

